

**Biotestsystem mit Bodenalgeln zur ökotoxikologischen Bewertung von Schwermetallen
und Pflanzenschutzmitteln am Beispiel von Cadmium und Isoproturon**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Biologie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Diplom-Biologe Matthias Burhenne

geboren am 28.07.68 in Berlin

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Dr. h. c. H. Meyer

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Prof. Dr. J. P. Rabe

Gutachter: 1. Prof. Dr. C. Steinberg

2. Prof. Dr. G. Deml

3. Prof. Dr. W. Pestemer

Tag der mündlichen Prüfung: 09.05.2000

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen benutzt zu haben.

.....

Berlin, den 13. Dezember 1999

PUBLIKATIONS- UND VORTRAGSLISTE

Publikationen

- Burhenne, M. & Deml, G. (1996). Biotests mit Bodenalggen zur Ökotoxikologie von Schwermetallen und zur Bewertung von Pflanzenschutzmitteln. In: Laux, W. (Hrsg.): 50. Deutsche Pflanzenschutztagung, Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. 321: 130.
- Burhenne, M., Schneider, I. & Bukowsky, H. (1997). Rieselfelder – Schwermetalle in Böden der Rieselfelder Berlin-Süd. UWSF – Z. Umweltchem. Ökotoxikol. 9 (2): 94-96.
- Burhenne, M., Deml, G. & Pestemer, W. (1998). Der „Algen-Erd-Biotest“ zur ökotoxikologischen Bewertung von Pflanzenschutzmitteln und Schwermetallen. Jahresb. Biol. Bundesanst. Land- und Forstw.: 200-201.
- Burhenne, M., Deml, G. & Steinberg, C. (1999). Ein Biotestsystem mit verschiedenen Bodenalggen zur ökotoxikologischen Bewertung von Schwermetallen und Pflanzenschutzmitteln. In: Oehlmann, J. & Markert, B. (Hrsg.): Ökotoxikologie – Ökosystemare Ansätze und Methoden. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech; 88-99.
- Burhenne, M. & Schneider, I. (im Druck). Rieselfelder. In: Enzyklopädie Naturwissenschaften und Technik. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech.
- Burhenne, M., Deml, G. & Pestemer, W. (eingereicht). Auswirkungen unterschiedlicher Testsubstrate – Wasser und Boden – in einem Biotestsystem mit Bodenalggen. Jahresb. Biol. Bundesanst. Land- und Forstw.

Vorträge

- SETAC-Europe-Conference (Society of Environmental Toxicology and Chemistry – German Language Branch) vom 24. bis 25.02.97 in Aachen: Quantitative Analyse von Bodenalggen in mit Schwermetallen (Blei und Cadmium) belasteten Böden.
6. wissenschaftliche Tagung der Sektion Phykologie in der Deutschen Botanischen Gesellschaft vom 17. bis 20.03.97 in Friedrichsroda: Quantitatives Vorkommen von Bodenalggen in natürlichen und anthropogen veränderten Böden und ihre Nutzung als Biotestorganismen.
- SETAC-Europe-Conference (Society of Environmental Toxicology and Chemistry – German Language Branch) vom 18. bis 20.05.98 in Zittau: Ein Biotestsystem mit verschiedenen Bodenalggen zur ökotoxikologischen Bewertung von Schwermetallen und Pflanzenschutzmitteln.
51. Deutsche Pflanzenschutztagung vom 5. bis 8.10.98 in Halle/Saale. Ein Biotestsystem mit verschiedenen Bodenalggen zur ökotoxikologischen Bewertung von Pflanzenschutzmitteln und Schwermetallen.

Berlin, den 13. Dezember 1999

.....

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	3
1 EINLEITUNG	5
1.1 Bodenalgen.....	5
1.2 Biotests.....	8
1.2.1 Anwendungsgebiete von Biotests	11
1.2.2 Bedeutung von Biotests im gesetzlichen Rahmen	11
1.2.3 Biotests mit Algen.....	14
1.3 Problemstellungen und Ziele.....	17
1.4 Testsubstanzen	18
2 MATERIAL UND METHODEN	20
2.1 Bodenproben	20
2.2 Isolierung von Bodenalgen	20
2.3 Bodenalgen aus belasteten und unbelasteten Böden.....	25
2.3.1 Bodenanalytische Methoden	25
2.3.2 Isolierungsversuche von schwermetallhaltigen Böden	25
2.3.3 Isolierungsversuch am Darßer Ort	27
2.4 Der Gel- und Boden-Biotest	31
2.4.1 Versuchsdurchführung für den Gel-Biotest	35
2.4.2 Versuchsdurchführung für den Boden-Biotest	38
3 ERGEBNISSE	41
3.1 Isolierte Bodenalgen.....	41
3.1.1 Algenabundanzen in den schwermetallhaltigen Böden	42
3.1.2 Algenabundanzen in Böden vom Darßer Ort.....	46
3.2 Biotestsystem	47
3.2.1 Auswahl der Biotestorganismen für die Biotests.....	47
3.2.2 Wuchsverhalten der ausgewählten Biotestorganismen.....	50
3.2.3 Gel-Biotest	51
3.2.4 Boden-Biotest.....	53
4 DISKUSSION	56
4.1 Isolierung von Bodenalgen	56
4.2 Algen in schwermetallhaltigen Böden	59
4.2.1 Bodenparameter	59
4.2.2 Algenabundanzen.....	60
4.3 Algen in Böden vom Darßer Ort.....	63
4.3.1 Bodenparameter	63
4.3.2 Algenabundanzen.....	63
4.4 Der Gel-Biotest für die Bewertung von Cadmium und Isoproturon.....	64
4.4.1 Auswahl der Biotestorganismen	65
4.4.2 Mikrotiterplattenmethode.....	67
4.4.3 Standardisierung des Gel-Biotests	69

4.4.4	Toxikologische Kennwerte für Cadmium und Isoproturon im Gel-Biotest.....	70
4.4.5	Vorteile des Gel-Biotests gegenüber dem DIN-Algentest.....	75
4.5	Der Boden-Biotest für die Bewertung von Cadmium und Isoproturon	77
4.5.1	Methode	77
4.5.2	Standardisierung des Boden-Biotests.....	81
4.5.3	Toxikologische Kennwerte für Cadmium und Isoproturon im Boden-Biotest.....	82
4.6	Vergleich der Ergebnisse vom Gel-Biotest und Boden-Biotest.....	89
4.7	Vergleich des Biotestsystems mit Bodenalgen gegenüber anderen Biotests	92
5	AUSBLICK.....	95
6	ZUSAMMENFASSUNG	96
7	SUMMARY	98
8	LITERATUR.....	100
9	ANHANG (DATEN)	113
10	DANKSAGUNG.....	143
11	LEBENS LAUF	144
12	SACHREGISTER.....	145

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ANOVA	analysis of variance
BBA	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
BBM	Bold's Basal Medium
cfu	colony forming units (koloniebildende Einheiten)
cf.	confer (unsichere Bestimmung, vergleiche mit dieser Art bzw. Gattung)
C _{org}	organischer Kohlenstoffgehalt
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.
E	Einstein (Einheit für die Lichtintensität, z. B. $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
EC ₁₀	effective concentration (Konzentration, bei der 10 % der Testorganismen bezüglich des Testparameters Wirkungen zeigen)
EC ₅₀	effective concentration (Konzentration, bei der 50 % der Testorganismen bezüglich des Testparameters Wirkungen zeigen)
ED ₁₀	effective dose (Dosis, bei der 10 % der Testorganismen bezüglich des Testparameters Wirkungen zeigen)
ED ₅₀	effective dose (Dosis, bei der 50 % der Testorganismen bezüglich des Testparameters Wirkungen zeigen)
EDTA	Ethylendiamintetraethylenessigsäure
EPA	Environmental Protection Agency
EPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IPU	Isoproturon
ISO	International Standards Organization
LC ₅₀	lethal concentration (mittlere tödliche Konzentration)
LD ₅₀	lethal dosis (mittlere tödliche Dosis)
LOEC	lowest observed effect concentration (niedrigste Konzentration, die gerade noch einen signifikant beobachtbaren Effekt hervorruft)
lx	Beleuchtungsstärke
NEC	no effect concentration (höchste Konzentration, die noch nicht zu Wirkungen führt)
NOEC	no observed effect concentration (höchste beobachtbare Konzentration, die noch nicht zu signifikanten erkennbaren Wirkungen führt)
NOEL	no observed effect level (höchste beobachtbare Dosis, die noch nicht zu signifikanten erkennbaren Wirkungen führt)
OD	Optische Dichte

OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
Pa	Pascal
SAG	Sammlung für Algenkulturen Göttingen
spec.	species (Art)
STABW	Standardabweichung
t	Zeit
Tab. A1	Tabelle 1 im Anhang
TS	Trockensubstanz
U	Umdrehungen
W	Watt

1 EINLEITUNG

1.1 Bodenalgen

Bodenalgen stellen neben den Bodenprotozoen eine vernachlässigte bzw. noch unvollständig erforschte Mikroorganismengruppe des Bodens dar. Zwar wurden seit Beginn des 19. Jahrhunderts bei taxonomischen Untersuchungen von Algen auch Bodenalgen mit berücksichtigt, wie z. B. bei Dillwyn (1809). Eine Auflistung von Reisinger (1964) über Untersuchungen an Bodenalgen seit dem 18. Jahrhundert bis ins 20. Jahrhundert macht deutlich, daß es sich bei der Bodenalgenkunde um kein neues Forschungsgebiet handelt. Einige Untersuchungen versuchten, charakteristische Algenfloren für verschiedene Kulturböden zu ermitteln (Weintraut 1943) sowie das Auftreten von Bodenalgen in Abhängigkeit vom pH-Wert (Schelhorn 1936, Lund 1962, Round 1985), von Klimafaktoren (Reisinger 1964) und von der Düngung des Bodens (Gistl 1933, Sauthoff & Oesterreicher 1994) zu erforschen. Insgesamt müssen die Kenntnisse über Bodenalgen weiterhin als lückenhaft angesehen werden (Schelhorn 1936, Pantera 1970, McCann & Cullimore 1979, Ettl & Gärtner 1995, Kremer 1997). Von Ettl und Gärtner ist 1995 das erste Bestimmungsbuch „Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen“ für Bodenalgen erschienen. Inzwischen gibt es am Botanischen Institut der Universität Innsbruck eine über mehrere Jahrzehnte existierende Bodenalgensammlung mit 379 Isolaten, bestehend aus 237 Arten und 93 Gattungen (Gärtner 1996).

Ein Problem beim Gebrauch des Wortes Bodenalgen liegt in den unterschiedlichen Definitionen, die es für diese Gruppe gibt. Diese Arbeit schließt sich der Definition an, die Ettl und Gärtner (1995) in ihrem Bestimmungsbuch nennen. Danach zählen zu den terrestrischen Algen (Bodenalgen) alle euterrestrischen (auf dem Boden lebenden), hydroterrestrischen (auf permanent feuchter Erde lebenden) und aeroterrestrischen (im engeren Sinne auf der Bodenoberfläche und an der Übergangszone zum aerischen Habitat lebenden) Formen.

Da Bodenalgen gegenüber aquatischen Algen eine viel geringere morphologische Vielfalt aufweisen (Alexander 1991), ist die Artbestimmung schwierig und kann nicht an Einzelzellen durchgeführt werden. Aus diesem Grund müssen die Algenisolate erst zu Reinkulturen aufgearbeitet werden (Vischer 1945, Round 1985). Vischer (1939) war einer der ersten, der die Agarplattenmethode zur Isolierung von Bodenalgen einsetzte. Die Methode wurde in den folgenden Jahrzehnten immer wieder modifiziert. Der Hauptunterschied der verschiedenen abgeänderten Methoden lag in der Art der Abtrennung der Algen von den Bodenpartikeln und der Aufbringung der Algen auf die Agarplatten.

Für einige Arten müssen zur Bestimmung erst Kulturen unterschiedlichen Alters und z. B. Flüssigkulturen zur Beobachtung einer eventuellen Zoosporenbildung erstellt werden.

Da Bodenalgen im Vergleich mit den Bakterien und Pilzen zu den langsam wachsenden Mikroorganismen gehören, können die Schritte bis zu einer bakterien- und pilzf freien Klonkultur mehrere Monate in Anspruch nehmen. In einigen Fällen kann es bei einer

bakterienfreien Algenkultur zu einem reduzierten Wachstum der Algen oder sogar zum Absterben dieser Arten kommen (Mouget et al. 1995, Keshtacher-Liebson et al. 1995).

Bodenalgen sind als autotrophe Organismen Primärproduzenten von organischer Substanz und spielen damit bei der Primärbodenbildung eine wesentliche Rolle (Stina 1969, Carson & Brown 1978, Metting 1981, Broady 1982, Shubert & Pederson 1986, Sauthoff & Oesterreicher 1994). Sie bilden durch die Ausscheidung wachstumsstimulierender Substanzen und löslicher Photosyntheseprodukte Nahrungsgrundlagen für zahlreiche Bakterien-, Actinomyceten- und Pilzarten und dienen anderen Bodenorganismen direkt als Nahrungsquelle (Metting 1990, Oesterreicher 1990, Zimmerman 1993). Sie haben auch eine wichtige Rolle bei der Verkittung des Bodens. Diese Funktion ist besonders für landwirtschaftlich genutzte Böden bedeutsam, da zeitweise völlig ungeschützte Böden einer starken Erosion ausgesetzt sind. In den überwiegend feuchten Breitengraden Mitteleuropas spielt dies eine untergeordnete Rolle. Aber in ariden Gebieten kann eine ausgeprägte Bodenalgengeneration durch die Ausscheidung von schleimigen Hüllen zur Aggregation von Bodenpartikeln führen und damit zur Reduzierung der Bodenerosion beitragen (Flechter & Martin 1948, Bailey et al. 1973, Shubert & Pederson 1986).

Viele Bodenalgen sind kosmopolitisch verbreitet, andere kommen nur in bestimmten Bodentypen vor (Starr 1973, Ettl 1980). Selbst an extremen Standorten, wie in der Arktis und Antarktis oder in Wüsten, findet man eine große Artenvielfalt (Friedmann et al. 1967, Dodge & Shubert 1996, Alfinito et al. 1998). Campbell et al. (1979) nennen als durchschnittlich in Böden vorkommende Algenbiomasse 320 kg/ha, und Metting (1981) geht von einigen 100 bis 1 000 und mehr kg Algentrockengewicht/ha aus. Allerdings gibt es Untersuchungen über Wüstenböden in Arizona, bei denen die Algenmassen auf 15 000 kg/ha organische Substanz geschätzt wird (Fuller & Rogers 1952). Letztere Angaben sind auf eine Bodentiefe von ca. 10 cm bezogen, Campbell et al. (1979) und Metting (1981) machen keine Angaben über die Bodentiefe. Die genaue Bestimmung der Biomasse von Bodenalgen aus der Algendichte ist schwierig, da zahlreiche Bodenalgengattungen in Aggregaten vorkommen (Metting 1990) und die Zellgrößen verschiedener Arten sehr unterschiedlich sein können. McCann und Cullimore (1979) gehen davon aus, daß die Algenbiomasse in trockenen Böden 4 % und in feuchten Böden während des Frühsommers bis zu 27 % der Gesamtbiomasse des Bodens ausmacht. Auch hier fehlen Angaben zur Bodentiefe.

In Tab. 1 sind die Abundanzen von Algen in unterschiedlichen Böden aus einigen ausgewählten Untersuchungen dargestellt.

Tab. 1: Angabe der Abundanzen verschiedener Bodenmikroorganismengruppen, BBM (Bold's Basal Medium)

Organismengruppe/ Bodentypen und Vegetation	Gesamtalgendichte in Zellen/g TS Boden	Kulturmedium/ Bestimmungsmethode	Publikationen
Algen			
Junge Böden, die sich auf Lavagestein (Hawaii) innerhalb der letzten 30 Jahre bildeten (Tiefe 0 cm bis 2,5 cm)	$5,5 \cdot 10^3$ bis $3,1 \cdot 10^5$	BBM/ Agarplattentechnik	Carson et al. 1978
Streuauflage eines 150 Jahre alten Buchenwaldbodens	$3,9 \cdot 10^5$ bis $1,7 \cdot 10^6$	BBM/ Fluoreszenzmikroskopische Bestimmung	Wöhler et al. 1998
Streuauflage eines Jungbuchenwaldbodens	$5,6 \cdot 10^6$ bis $3,0 \cdot 10^7$	BBM/ Fluoreszenzmikroskopische Bestimmung	Wöhler et al. 1998
O _r -und O _h -Bodenlage eines sauren Braunerdebodens (Jungbuchenwald)	$6,2 \cdot 10^4$ bis $2,7 \cdot 10^5$	BBM/ Fluoreszenzmikroskopische Bestimmung	Wöhler et al. 1998
Anlehmiger Sand in einer agrarwirtschaftlichen Versuchsfäche (Tiefe 0 cm bis 5 cm)	$3,4 \cdot 10^4$ bis $1,6 \cdot 10^5$	BBM/ Agarplattentechnik	Hahn et al. 1997
Schluffiger Sand (Ackerboden) (Tiefe 0 cm bis 1 cm)	$1,0 \cdot 10^5$ bis $1,5 \cdot 10^6$	BBM/ Agarplattentechnik	diese Arbeit
(Tiefe 0 cm bis 5 cm)	$5,0 \cdot 10^4$ bis $1,0 \cdot 10^5$		
Natürliche Sandböden im Dünenbereich der Ostsee (Tiefe 0 cm bis 5 cm)	$4,0 \cdot 10^5$ bis $9,0 \cdot 10^5$	BBM/ Agarplattentechnik	diese Arbeit
Schätzwerte für Bodenmikroorganismengruppen			
Algen	10^3 bis 10^5	/	Metting 1990
	10^3 bis 10^4	/	Gisi et al. 1990
	10^4 bis 10^5	/	Schinner 1996
Bakterien	10^7 bis 10^9	/	Schinner 1996
	10^8 bis 10^9	/	Alexander 1961
Aktinomyceten	10^6 bis 10^8	/	Schinner 1996
Pilze	10^4 bis 10^7	/	Gisi et al. 1990
	10^4 bis 10^6	/	Alexander 1961
	10^5 bis 10^6	/	Schinner 1996
Protozoen	10^4 bis 10^6	/	Gisi et al. 1990
	10^4 bis 10^5	/	Alexander 1961

Allerdings sind nicht die real im Boden vorkommenden Individuenzahlen genannt, sondern nur die durch verschiedene Zähl-, Isolierungs- und Kultivierungstechniken feststellbaren. Teilweise fehlen auch Angaben zur Beprobungstiefe. Aus diesem Grund sind diese Ergebnisse nur eingeschränkt vergleichbar und können lediglich ein Hinweis auf die realen Mikroorganismen- und Algenabundanzen in verschiedenen Böden sein. Letztlich muß bei jeder Isolierungsmethode auch davon ausgegangen werden, daß sie nur einen Teil der im Boden vorkommenden Algen erfaßt, da Selektionsmechanismen durch spezielle Nährstoffansprüche, wie pH-Wert etc., eine Rolle spielen können (Mückenhausen 1974).

Die Anzahl der Pilzindividuen ist aufgrund des mycelartigen Wachstums besonders schwierig zu erfassen. Sie ist wahrscheinlich 50- bis 500mal kleiner als die der Bakterien mit bis zu 10^9 Zellen/g TS Boden. Die Biomasse der Pilze kann 5mal größer sein als die der Bakterien (Gisi et al. 1990).

Über die im Boden vorkommende Artenvielfalt von Algen existieren unterschiedliche Angaben. Round (1981) geht von ungefähr 100 gewöhnlichen Bodenalgenarten aus, Metting (1981) spricht von 147 Gattungen weltweit und Ettl und Gärtner (1995) gehen weltweit von 170 Gattungen mit ca. 1 000 Arten aus.

Trotz der vielfältigen Funktionen der Bodenalgae und ihrer hohen Dichte und Artenvielfalt im Boden wurde diese Organismengruppe bisher kaum in der ökotoxikologischen Forschung berücksichtigt.

1.2 Biotests

Biotests sind standardisierte Analysemethoden, die lebende Organismen oder Gemeinschaften in definierter Art und Anzahl sowie suborganische Systeme einsetzen, um deren Reaktion auf eine Exposition zu messen (Zimmermann 1996, Fent 1998).

Unter dem Begriff Biotest werden Laborbiotests, Monospezietests und Biotestsysteme zusammengefaßt. Unter Laborbiotests versteht man gegenüber Freilanduntersuchungen Biotests, die unter standardisierten Bedingungen im Labor stattfinden. Sie können als Testorganismen mehrere Arten nutzen oder spezielle Gruppen von Organismen, wie z. B. Nitrifikanten. Monospezietests sind ebenfalls standardisierte Laborbiotests, bei denen nur eine Art einem Stoff oder Stoffgemisch ausgesetzt wird (Mathes et al. 1991). Unter dem Begriff Biotestsystem wird in vorliegender Untersuchung eine Kombination mehrerer Monospezietests verstanden.

Grundlegend für jede toxikologische Betrachtung ist das von Paracelsus (1493-1541) formulierte Gesetz der Dosisabhängigkeit einer toxikologischen Wirkung einer Substanz, die sich durch die Dosis-Wirkungs-Kurve darstellen läßt. Bei dieser Darstellungsform wird die prozentuale Häufigkeit einer Wirkung bei einem Organismus bzw. einer Population gegen den Logarithmus der Dosis aufgetragen (Fent 1998). Aus dieser Kurve lassen sich verschiedene Richtgrößen ermitteln. Diese toxikologischen Richtgrößen, wie z. B. der ED₁₀-Wert, der nach Pestemer und Günther (1993) und Pestemer und Pucelik-Günther (1997, 1999) mit dem

NOEL-Wert (No Observed Effect Level) gleichgesetzt werden kann, oder der ED₅₀-Wert bzw. der EC₁₀- und EC₅₀-Wert, sind das Ziel und Ergebnis von Biotests. Eine weitere bis jetzt häufig angewendete toxikologische Richtgröße ist der NOEC-Wert (No Observed Effect Concentration). Der NOEL-Wert wie auch der NOEC-Wert sind etablierte Richtgrößen, die in nationalen und internationalen Testverfahren, wie z. B. dem DIN 28 692- oder OECD 201-Biotest, gefordert werden. Neuere Berechnungsverfahren zur Toxizität eines Stoffes haben sich in den verschiedenen Richtlinien für Biotests noch nicht oder nur teilweise durchgesetzt, obwohl inzwischen mehrfach auf die Schwachpunkte des NOEL- und NOEC-Wertes hingewiesen wurde. Die OECD ließ 1993 die Studie „A review of statistical data analysis and experimental design in OECD aquatotoxicity test guidelines“ (Pack 1993) erstellen. In dieser Studie werden statistische Routineverfahren in Frage gestellt. Ein Vorschlag ist, ANOVA-Methoden zur Bestimmung von NOEC-Werten durch Modellierungen von Dosis-Wirkungskurven und EC-Punkt-Schätzungen zu ersetzen. Joermann et al. (1995) und Chapman et al. (1996) nennen als Hauptnachteile des NOEC-Wertes, daß er zwangsläufig eine der Testkonzentrationen ist, daß eine hohe Variabilität der Meßwerte der Wiederholungen die Trennschärfe mindert und dies zu höheren NOEC-Werten führt, daß es keine Vertrauensbereiche gibt und die Daten der Dosisstufen oberhalb des LOEC-Wertes nicht in das Ergebnis einfließen und damit verschwendet werden. Van der Hoeven (1998) führt als Hauptkritikpunkt des NOEC-Wertes an, daß er häufig als NEC (No-Effect Concentration) interpretiert wird, obwohl der NOEC-Wert nur aussagt, daß die entsprechende Konzentration in einem durchgeführten Test keine signifikante (5 % Irrtumswahrscheinlichkeit) beobachtbare Differenz zur Kontrolle aufweist. Allerdings muß berücksichtigt werden, daß manchmal Differenzen zwischen Testkonzentrationen und Kontrolle von 25 % bis 50 % nicht signifikant unterschiedlich sind (Noppert et al. 1994). Damit kann der NOEC-Wert sogar im Bereich des EC₅₀-Wertes liegen und ist damit ein sehr ungenauer Wert, der den Konzentrationsbereich, in dem ein Stoff gerade noch keinen Effekt auf einen Organismus hat, unzureichend beschreibt. Dies trifft besonders auf Untersuchungen zu, bei denen die Konzentrationsabstufungen im genannten Bereich groß sind. Eine wissenschaftlich fundierte Berechnung dieses Bereiches wird durch die Ermittlung des EC_x-Wertes möglich, der anhand von probabilistischen Verfahren (z. B. Probitanalyse) ermittelt wird. Pestemer und Günther (1993) und Noppert et al. (1994) empfehlen als EC_x-Wert zur Beschreibung des Bereiches, bei dem eine Substanz gerade noch keinen Effekt auf einen Organismus aufweist, einen Wert für x von 5 % oder 10 %. In vorliegender Arbeit wurde der EC₁₀-Wert gewählt und auf die Berechnung des NOEC-Wertes aus den genannten Gründen verzichtet. Als weiterführende Literatur zur Logit- und Probitanalyse im Vergleich zu einem neueren Verfahren, dem Dynamic Energy Budget Modell, das die verschiedenen Lebensphasen eines Organismus berücksichtigt, sind die Arbeiten von van Haren et al. (1994), Kooijman und Bedaux (1996) und Kooijman (1996, 1998) zu nennen. Sloff et al. (1986) und Wagner und Løkke (1991) beschreiben eine weitere Methode, bei der, ausgehend von im Labor ermittelten Toxizitätsdaten mit wenigen sogenannten repräsentativen Testarten, eine bestimmte Sensitivitätsverteilung im Ökosystem angenommen wird. An diese Daten werden Summenhäufigkeitskurven angepaßt, die eine log-logistische oder log-normalverteilte Abhängigkeit von der Schadstoffkonzentration

aufweisen. Mit dieser Verteilung wird die höchste Konzentration eines Schadstoffes geschätzt, die wahrscheinlich für die meisten (in der Regel 95 %) der Arten im Ökosystem nicht gefährlich ist.

Ein Vorteil von Biotests gegenüber der physikalisch-chemischen Analytik ist die Möglichkeit, Auskünfte über die biologische Wirksamkeit eines Stoffes zu erhalten (Nusch 1993, Ahlf 1995). Weiterhin sind Biotests häufig finanziell günstiger und einfacher in Feldlaboren durchzuführen als die physikalisch-chemische Analytik (Galassi & Vighi 1981). An Biotestorganismen und Laborbiotests werden Anforderungen gestellt, die sich für spezielle Fragestellungen verändern können (Arndt et al. 1987):

- leichte Handhabbarkeit und Wartung
- genetische Einheitlichkeit der Organismen
- weitgehende Kenntnisse der Reaktionsbedingungen
- Offensichtlichkeit und Quantifizierbarkeit der Wirkung
- leichte Auswertung des Signals der Wirkung
- statistische Auswertbarkeit des Signals
- Preisgünstigkeit

Daraus resultiert, daß Laborbiotests und insbesondere Monospezietests einen geringen apparativen Aufwand erfordern, in relativ kurzen Zeiträumen durchgeführt werden können und zu reproduzierbaren Ergebnissen führen.

Ein Nachteil von Biotests, insbesondere von Laborbiotests und Monospezietests, liegt darin, daß man nur eine oder einige Arten aus einer Organismengruppe und einem Ökosystem herausgreift und diese einzeln im Labor untersucht (Schlosser 1988). Des weiteren müssen spezielle Faktorenkonstellationen wie Temperatur, Licht, Nährstoffzufuhr, pH-Wert usw. festgelegt werden, damit man reproduzierbare und vergleichbare Testergebnisse erhält. Insbesondere der pH-Wert hat entscheidenden Einfluß auf die Zustandsform einer Testsubstanz und die biologische Verfügbarkeit und Wirkung derselben (Steinberg et al. 1992). Durch diese Maßnahmen geht eine Vielzahl an Informationen über die Reaktion, die der getestete Organismus in einem natürlichen Ökosystem auf einen Schadstoff eventuell zeigen würde, verloren (Schlosser 1988, Dott & Klein 1995). Auch können toxikologische Richtgrößen, die nur für sich allein betrachtet werden, wie dies häufig beim EC_{50} -Wert der Fall ist (Fent 1998), zu fehlerhaften Einschätzungen der Toxizität eines Stoffes führen. Andererseits ist es nicht möglich, für jeden Stoff und Organismus alle toxikologischen Kenngrößen, die Wachstumskurven und Dosis-Wirkungs-Kurven anzugeben, wenn man die Toxizität von zahlreichen Substanzen übersichtlich miteinander vergleichen möchte.

Trotz der Nachteile einfacher Biotests muß festgestellt werden, daß sie als erste Information über die Toxizität eines Stoffes nicht ersetzbar sind (Nusch 1989). Andererseits ist eine umfassende Einschätzung der Ökotoxizität eines Stoffes nicht auf der Ebene von einigen Laborbiotests und Monospezietests durchführbar. Weitere Tests, wie z. B. vereinfachte Populationsversuche mit Modellökosystemen im Labor und als letzte Stufe komplexe Freilandexperimente, sind nötig (Mathes et al. 1991). Ebenso ist die Einbeziehung von

Extrapolationsfaktoren wichtig, um eine Abschätzung der Auswirkungen des jeweiligen Stoffes auf ein Ökosystem (z. B. Boden) geben zu können.

Von wenigen Ausnahmen abgesehen werden Algen trotz ihrer hohen Dichte und Artenvielfalt im Boden bisher nicht als Biotestorganismen in Modellökosystemen oder einfachen Laborbiotests für die Bewertung von Pflanzenschutzmitteln, Chemikalien und Böden eingesetzt.

1.2.1 Anwendungsgebiete von Biotests

Neben der intensiven Nutzung von Biotests im Bereich der Medizin, z. B. der Medikamentenerforschung, liegt ein weiteres wesentliches Einsatzgebiet im Bereich der Pflanzenschutzmittelentwicklung und -prüfung sowie in der Chemikalienbewertung (Zimmermann 1996).

Die Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Böden sind in der Bodenmikrobiologie anhand von Biotests intensiv untersucht worden. Hier sind die Untersuchungen im landwirtschaftlichen Bereich zu nennen, die zur Reduzierung phytopathogener Arten führten und führen.

Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln und Umweltchemikalien auf Organismengruppen, deren Vorkommen keine drastischen und kurzfristig beobachtbaren Auswirkungen auf die Pflanzenproduktion oder eine Veränderung des Bodens haben, sind dagegen nur vereinzelt untersucht worden. Insbesondere sei hier auf Bodenalgae hingewiesen, die in den einschlägigen Lehrbüchern und bei Untersuchungen zur Bodenmikrobiologie oder Bodenökologie oft vernachlässigt werden.

1.2.2 Bedeutung von Biotests im gesetzlichen Rahmen

Die Erkenntnis darüber, daß es sich beim Boden um einen wichtigen Lebensraum handelt, hat in zunehmendem Maß zu rechtlichen Regelungen geführt, wie national das „Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen“ (Chemikaliengesetz - ChemG 1994), das „Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen“ (Pflanzenschutzgesetz - PflSchG 1998) und das „Gesetz zum Schutz des Bodens“ (Bundes-Bodenschutzgesetz - BBodSchG 1998) und international die Richtlinie 91/414/EWG (Anhänge II und III bzw. Anhang IV), wo entsprechende Entscheidungsgrundsätze in Prüfrichtlinien (EPPO, OECD, ISO, EPA etc.) festgeschrieben sind. Teilweise sind auch Anforderungen nach Durchführung verschiedener Biotests enthalten. Diese Gesetze und Verordnungen sollen eine Schadstoffbelastung des Bodens und eine damit verbundene Anreicherung in Böden oder eine schädliche Bodenveränderung verhindern oder zumindest einschränken (Riepert 1998).

Um die Exposition und toxischen Wirkungen von Stoffen, z. B. eines Pflanzenschutzmittels, auf den Boden und die in ihm und auf ihm lebenden Organismen bis hin zum Menschen in Form von Risikobetrachtungen abschätzen zu können, gibt es spezielle Prüfrichtlinien (Rudolph & Boje 1986). Gemäß einer EU-Richtlinie von 1993 zur Festlegung von

Grundsätzen müssen Behörden für jeden angemeldeten Stoff eine Bewertung der Risiken für Mensch und Umwelt vornehmen. In einem ersten Schritt wird das Gefährdungspotential eines Stoffes aufgrund seiner physikalisch-chemischen und toxikologischen Eigenschaften sowie seiner Auswirkung auf die Umwelt abgeschätzt, und in einem zweiten Schritt wird eine mögliche Exposition ermittelt (Fent 1998).

Auf den Boden bezogen bedeutet dies, daß analytische Untersuchungen über die Persistenz, Abbaubarkeit und entstehende Metaboliten im Boden für einen Stoff durchgeführt werden müssen und Biotests mit Vertretern der Bodenorganismengruppen vorliegen sollen (Richtlinie 91/414/EWG 1991).

In einem dritten Schritt wird aufgrund des Vergleiches zwischen Gefahrenpotential und einer möglichen Exposition das Risiko beschrieben. Die Ergebnisse der Risikobewertung stellen dann die Grundlage für Maßnahmen zur Minderung von Risiken dar.

Bislang werden für eine erste Bewertung im Rahmen des Chemikaliengesetzes und bei der Erprobung von Pflanzenschutzmitteln überwiegend Monospezies tests eingesetzt (DFG 1994).

Bei Neustoffanmeldungen im Rahmen des Chemikaliengesetzes und für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln nach dem Pflanzenschutzgesetz müssen Prüfungsergebnisse vorgelegt werden, die eine Bewertung der Umweltverträglichkeit der Stoffe ermöglichen.

Im Rahmen des Chemikaliengesetzes gibt es verschiedene Anmeldestufen. Die Art und der Umfang der ökotoxikologischen Untersuchungen richten sich bei Chemikalien nach der Herstellungsmenge. Die Prüfnachweise der Grundprüfung müssen sich nach § 7 des Chemikaliengesetzes - ChemG (1994) auf 12 Bereiche erstrecken, von denen vier in den Bereich der mikrobiologischen Prüfung fallen. Es handelt sich um die Prüfbereiche:

3. Krebserzeugendes oder erbgutveränderndes Potential (z. B. ein bakterieller Test zur Ermittlung der Auslösung von Genmutationen)
8. Leichte biologische Abbaubarkeit
10. Hemmung des Algenwachstums (z. B. *Scenedesmus subspicatus*)
11. Bakterieninhibition.

Für Pflanzenschutzmittel gibt es in den Mitgliedsstaaten der Europäischen Union eine Zulassungspflicht. Die einheitlichen Anforderungen an Unterlagen und Entscheidungskriterien sind für die verschiedenen Prüfbereiche durch die „Richtlinien des Rates vom 15. Juli 1991 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln (Richtlinie 91/414/EWG 1991)“ vorgegeben (Klingauf 1998). In der Bundesrepublik Deutschland wurde das „Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen“ vom 15. September 1986 (Pflanzenschutzgesetz - PflSchG 1986) durch die Bekanntmachung des Pflanzenschutzgesetzes vom 14. Mai 1998 geändert, um die Richtlinie 91/414/EWG in nationales Recht umzusetzen. In dieser wird ein Mindestsatz an Prüfberichten zur Toxizität von Pflanzenschutzmitteln gegenüber aquatischen und terrestrischen Organismen mit Wirkstoffen und Formulierungen verlangt. Je nach den Ergebnissen dieser Prüfungen und dem Anwendungsgebiet treten Forderungen nach weiteren Untersuchungen in Kraft.

Im Bereich der Biotests müssen Untersuchungen an verschiedenen Säugetierarten (z. B. Ratte und Kaninchen), Regenwürmern, Bodenmakroorganismen, Honigbienen, Nutzarthropoden, Gewässerorganismen und Bodenmikroorganismen durchgeführt werden (Pflanzenschutzgesetz - PflSchG 1998).

Bei den Untersuchungen an Bodenmikroorganismen geht man davon aus, daß ihre mikrobielle Aktivität mit der Bodenfruchtbarkeit korreliert. Daher werden bisher überwiegend Toxizitätstests zur Feststellung der Verminderung von Stoffwechselraten durch Belastungen des Bodens durchgeführt. Es handelt sich um Tests zur Bodenatmung, Ammoniumbildung, zur Nitrifikation oder Tests zur Enzymaktivität (z. B. Urease, Dehydrogenase und Phosphatase). Dabei werden Aussagen über die Gesamtaktivität der Mikroorganismen gewonnen. Aber Informationen über selektive Effekte von Schadstoffen auf einzelne Organismengruppen oder Arten sind nicht möglich. Informationen über Populationsverschiebungen oder die Entwicklung resistenter Mikroorganismen werden nicht erhalten (Fent 1998). Bisher gibt es überwiegend im aquatischen Bereich Biotests mit Vertretern aus einzelnen Organismengruppen, wie den Leuchtbakterientest oder den DIN 28 692 Biotest „Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum*“ (DIN 28 62). Letzterer Biotest liegt auch als OECD 201 Biotest „Algal, Growth Inhibition Test“ (OECD 201) vor.

Aus den geforderten Unterlagen zur Bewertung von Stoffen im Chemikaliengesetz und den Zulassungsrichtlinien für Pflanzenschutzmittel im Pflanzenschutzgesetz wird deutlich, daß es inzwischen Biotests gibt, die die unterschiedlichen trophischen Ebenen abdecken. Sowohl im Chemikaliengesetz als auch im Pflanzenschutzgesetz bzw. in der Richtlinie 91/414/EWG Anhang 2, Teil A wird für die autotrophe Ebene ein Biotest gefordert, der Aussagen über das Algenwachstum macht. Üblicherweise wird dafür der DIN 28 692 Biotest eingesetzt.

In den Gesetzen gibt es keine Vorschrift oder Empfehlung für die Durchführung eines Biotests mit Bodenalgeln für die Bewertung ökotoxischer Auswirkungen eines Stoffes. Dies liegt beim Pflanzenschutzgesetz vor allem daran, daß hier nur die ökotoxischen Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Gewässer und auf in den Gewässern vorkommende Algen untersucht werden sollen.

Als Ursache für die Vernachlässigung von Bodenalgeln in der Biotestforschung sind in erster Linie der niedrige Kenntnisstand und das geringe Datenmaterial für diese Organismengruppe anzuführen. Untersuchungen über das Vorkommen von Bodenalgeln in natürlichen und landwirtschaftlich genutzten Böden liegen, im Vergleich zu aquatischen Algen, in geringerer Zahl vor (Shubert & Pederson 1986). Publikationen über die Eignung von Bodenalgeln als Biotestorganismen gibt es nur vereinzelt.

Daß ein Bedarf für ein derartiges Testsystem besteht, wird auch dadurch deutlich, daß inzwischen vermehrt Untersuchungen mit dem DIN-Algentest durchgeführt werden, indem man diesen Test auch für die Bewertung von Bodeneluataten nutzt (Ahlf et al. 1992). Allerdings handelt es sich bei diesen abgeänderten DIN-Algentests nur um Bodeneluatbiotests und keine wirklichen Bodenbiotests, d. h. der Biotest findet weiterhin im flüssigen Medium statt, in das dann die Bodeneluate als Teststoff dazugegeben werden, und nicht in einem

Boden. Außerdem bedeutet die Nutzung des DIN-Algentests, daß man das Ökosystem Boden mit Organismen bewertet, die nicht in diesem Ökosystem vorkommen, sondern im aquatischen. Damit haben diese Biotests kaum mehr einen Bezug zur ökosystemaren Realität.

Deshalb ist es aus ökotoxikologischer Sicht wichtig, bei der Bewertung von Sedimenten und Bodeneluat den Bodenalggen zu berücksichtigen und diese auch beim Nachzulassungsmonitoring zum Langzeitabbauverhalten von Pflanzenschutzmitteln einzubeziehen.

1.2.3 Biotests mit Algen

Der Wert von eukaryontischen aquatischen Algen als empfindliche Bioindikatoren und Biotestorganismen ist schon seit längerer Zeit bekannt. Bringmann und Kühn (1959) entwickelten schon in den 50er Jahren Biotests mit *Scenedesmus quadricauda*. Es gibt verschiedene Untersuchungen über aquatische Algen, z. B. über Schwermetalle und deren Auswirkungen auf die aquatische Alge *Selenastrum capricornutum* (Bartlett et al. 1974, Chen 1997 et al.) und *Scenedesmus subspicatus* (Schäfer et al. 1994), Beurteilungen der Belastungen von Seen und Flüssen mit *Selenastrum capricornutum* (Greene et al. 1975, Greene et al. 1976) sowie Einschätzungen der biologischen Schädwirkungen organischer Komplexbildner mit *Chlorella fusca* (Nusch 1977). Bringmann und Kühn (1980) untersuchten 156 wassergefährdende Stoffe mit *Scenedesmus quadricauda*. In zahlreichen Untersuchungen wurde die Toxizität von Pflanzenschutzmitteln auf aquatische Algen untersucht (Kunert & Böger 1979b, Faust et al. 1992, Day 1993, Schäfer et al. 1994, Shizong et al. 1997, Bonilla et al. 1998). Pestemer (1979) erstellte eine Zusammenfassung über Biotests mit Algen zur Toxizitätseinschätzung von Herbiziden bis 1979, Shubert (1984) bis 1983 und Pipe (1992) von 1978 bis 1991. Trainor et al. (1984) geben einen Überblick über die Nutzung von Süßwasseralgen als Biotestorganismen und Maestrini et al. (1984) über marine Algen als Testorganismen.

Des weiteren wurden mit *Chlorella fusca* auch Untersuchungen über die Auswirkungen von Gemischttoxizitäten durchgeführt (Grimme et al. 1996). Und es wurde der standardisierte Biotest (DIN 38 412) mit *Scenedesmus subspicatus* in der Form modifiziert, daß er sich auch für die Bewertung von flüchtigen Substanzen eignet (Kühn & Pattard 1990, Pattard & Pernak 1992). Darüber hinaus wurde ein automatisiertes Algentoximeter mit *Scenedesmus subspicatus* für die kontinuierliche Gewässerüberwachung entwickelt (Noak & Walter 1992). Merschhemke und Regh (1992) und Gerhardt und Putzger (1992) entwickelten ebenfalls automatisierte Algentestgeräte zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung mit verschiedenen aquatischen Algen.

Die Forschungen auf dem Gebiet der Ökotoxikologie mit aquatischen Algen führten schon 1969 dazu, daß von einer „Joint Industry-Government Task Force“ in den USA eine „Provisional Algal Assay Procedure“ PAAP veröffentlicht wurde (Maloney & Miller 1975, Nusch 1992). Schon 1971 gab es in den Vereinigten Staaten eine EPA-Verordnung (Environmental Protection Agency) mit aquatischen Algen „Algal Assay Procedure – Bottle Test“ (Galassi & Vighi 1981). In Deutschland waren es im wesentlichen die Arbeiten von

Bringmann und Kühn (Bringmann & Kühn 1959, Bringmann & Kühn 1980), die die Grundlagen legten, die dann zum standardisierten Fertilitätstest (Biomassentiter DEV, L 6) und Toxizitätstest (DEV, L 9) führten. Im Mai 1989 erschien die Norm für einen Zellvermehrungshemmtest mit *Scenedesmus subspicatus* als DIN 38 412, Teil 9, „Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Grünalgen (*Scenedesmus*-Zellvermehrungshemmtest)“. Für die routinemäßige Überprüfung der Toxizität von Abwässern wurde ein aus L 9 entwickeltes vereinfachtes Verfahren (nur Chlorophyllfluoreszenzmessung nach 72 h) im März 1991 als DIN 38 412, Teil 33, genormt. Inzwischen wurde die Norm DIN 38 412, Teil 9, ersetzt durch den DIN 28 692 Test „Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum*“ (ISO 8692).

In der OECD-Richtlinie wird dieser Test als OECD 201 „Alga, Growth Inhibition Test“ mit leichten Abweichungen zu den DIN-Verfahren L 9 und L 33 seit 1984 geführt (OECD 201). Hier wird neben *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum* auch *Chlorella vulgaris* als Testorganismus vorgeschlagen. Inzwischen wird der DIN 28 692 Test auch für die Bewertung von Bodeneluatn herangezogen (Ahlf et al. 1992, Knie 1992, Noak 1992, Hund 1997). Auch liegen modifizierte Varianten vor, wie z. B. von Stähler (1998), der mit einer verringerten Wiederholungsanzahl, dafür aber mit mehreren Konzentrationsstufen arbeitete und damit vom klassischen Versuchsansatz abwich.

Des weiteren gibt es Untersuchungen, die die Eignung von *Chlorella kessleri* und *Selenastrum capricornutum* als Bioindikatoren für Bodenkontaminationen feststellen (Klimanek & Mücke 1996), und Untersuchungen mit *Chlorella vulgaris* oder *Chlorella pyrenoidosa* als Biotestorganismen für Herbizide (Addison & Bardsley 1968, Loeppky & Tweedy 1969, Kratky & Warren 1971a, Kratky & Warren 1971b, Wright 1975, Yanase et al. 1993). Diese Untersuchungen wurden ebenfalls mit Bodeneluatn in einem Flüssigmedium durchgeführt.

Aquatische Algen gelten als sensible und praktikable Testorganismen, die in vielfältiger Form eingesetzt werden. Gerade im Bereich Sensibilität ist der Wert von Algen als Biotestorganismen besonders zu betonen, da sie gegenüber bestimmten Kontaminationen (z. B. Photosynthesehemmern) empfindlicher sind als Organismen auf einem höheren trophischen Niveau (Blanck 1984, Thomas et al. 1986).

Den zahlreichen Untersuchungen über aquatische Algen stehen die Wissenslücken im Bereich der Bodenalgen gegenüber (Metting 1981, Shubert 1984, Hammel et al. 1998). Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln, Schwermetallen und weiteren Umweltchemikalien auf Bodenalgen und deren Eignung als Biotestorganismen sind nur wenig untersucht worden (Stina 1969, Drew & Anderson 1976, McCann & Cullimore 1979, Pipe 1992, Neuhaus et al. 1997). McCann und Cullimore (1979) geben eine Übersicht über den Einfluß von Pflanzenschutzmitteln auf die Bodenalgenflora und betonen die Vorteile von Biotests mit Bodenalgen in bezug auf die hohen Vermehrungsraten von Bodenalgen sowie die zeitsparende und einfache Handhabung gegenüber höheren Pflanzen.

Metting (1981) gibt einen Überblick über die Auswirkungen von Herbiziden, Fungiziden und Insektiziden auf Bodenalggen und weist auf die geringe Anzahl von Publikationen über die Nutzung von Bodenalggen für Biotests hin.

Für die Bewertung von Sedimenten (Ahlf et al. 1992, Ahlf 1995) und Böden (Shubert 1984, Sellner & Dau 1992) mit Hilfe von Biotests besteht noch ein hoher Forschungsbedarf. Bei einigen dieser Bodenbiotests handelt es sich um keine wirklichen Bodenbiotests, sondern um Bodeneluattests. Manche dieser Biotests, wie der zur Bewertung von Bodeneluat herangezogene Leuchtbakterientest (Klimanek & Mücke 1996), haben in Durchführung und Nutzung der Testorganismen einen nur sehr eingeschränkten Bezug zur ökosystemaren Realität (Sellner & Dau 1992, Musset 1994).

Ebenso finden auch Biotests mit Bodenalggen häufig in Flüssigmedien statt, und die ökophysiologische Wichtigkeit des Bodens mit den drei Phasen fest (Bodenpartikel), flüssig (Regenwasser und Kapillarwasser) und gasförmig (Hohlräume im Boden) wird nicht berücksichtigt (Wright 1975, Pederson & Shubert 1992).

Die Untersuchungen mit Bodenalggen in natürlichen Böden lassen sich überwiegend in zwei Hauptgruppen einteilen.

Die erste Gruppe sind Untersuchungen über die Algenabundanzen in Böden nach der Aufbringung von Pflanzenschutzmitteln oder anderen Teststoffen. Pantera (1970) beobachtete das Wachstum von Bodenalggen im Freiland nach Aufbringung von Pflanzenschutzmitteln über mehrere Jahre anhand des Chlorophyllgehaltes in den Böden. Cullimore und McCann (1977) untersuchten vier Herbizide und die Reaktion von 31 Algengattungen auf diese. Neuhaus (1994) und Sauthoff und Oesterreicher (1994) beobachteten die Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln im Freiland und Burhenne et al. (1996) den Einfluß von blei- und cadmiumbelasteten Böden im Freiland auf die Gesamtalgenabundanzen.

Die zweite Gruppe besteht aus verschiedenartigen Laborbiotests mit Bodenalggen. Jansen et al. (1958) ließen Mischkulturen von Bodenalggen auf einer glatten Perlitoberfläche wachsen und testeten die Hemmwirkung von Herbiziden durch Messung der Koloniedurchmesser. Aktins und Tchan (1967) sowie Lefebvre-Drouet und Calvet (1983) entwickelten Biotests mit einer Algenspezies, bei denen sich der kontaminierte Boden in einem Cellulosebehälter befand und die Algen außerhalb dieses Behälters in einer Flüssigkultur. Wright (1975) besprühte Petrischalen dicht mit einer Algenart und legte anschließend herbizidetränkte Filterplättchen auf den Agar mit den Algen. Die Hemmung des Algenwachstums wurde über die Größe des Hemmhofes um das Filterplättchen gemessen. Helling et al. (1971) nutzten dünn mit Erde bezogene Platten und die Alge *Chlorella sorokiniana* als Biotest für Pflanzenschutzmittel, und Pillay und Tchan (1972) gaben unialgale Kulturen auf ein Filterpapier und plazierten dies dann auf herbizidbelastete Böden. Drew und Anderson (1977) nutzten 25-Kavitäten-mikrotiterplatten, um die natürlichen Gesamtalgenabundanzen von kontaminierten Böden und das Wachstum von künstlichen Bodenalggenmischkulturen in diesen Böden zu bestimmen. Dabei wurden die Mikrotiterplatten mit den entsprechenden Böden befüllt, unter definierten Bedingungen kultiviert und die Algendichte fluoreszenzmikroskopisch ermittelt. Pipe et al.

(1980) setzten Objektträger ein, die sie vertikal in Böden befestigten, um den Bewuchs mit Algen mikroskopisch auszuwerten und Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln bewerten zu können. Musset (1994) entwickelte eine Methode, bei der kontaminierter Boden in Petrischalen gegeben und nach definierten Kulturbedingungen und Zeitintervallen die Gesamtalgenzahl ermittelt wird. Ria und Mallick (1993) entwickelten zur Bewertung von Schwermetallbelastungen in Böden einen künstlichen Mikrokosmos, in den auch vier Bodenalgarten integriert wurden. Hammel et al. (1998) erarbeiteten einen Labortest zur Bewertung von kontaminierten Böden, indem sie sterile kontaminierte Böden in Petrischalen mit der Bodenalge *Chlorococcum infusionum* gaben. Die Auswertung fand nach 14 Tagen über die Bestimmung des Chlorophyllgehaltes statt.

Neuhaus et al. (1997) stellten eine der wenigen Untersuchungen vor, die Freiland- und Labortests miteinander verglichen. Sie arbeiteten mit zwei Bodenalgenspezies sowie der Gesamtalgenzahl in Labortests mit natürlicher Erde und untersuchten die Gesamtalgenzahl in einem Freilandversuch in ihrer Sensibilität gegenüber dem Pflanzenschutzmittel Igran 500. Sie betonen die Notwendigkeit der Entwicklung standardisierter Biotests, wie sie für aquatische Algen entwickelt wurden.

In fast allen Arbeiten wird auf die Schwierigkeit hingewiesen, die Algen vom Boden zu trennen, um eine Veränderung des Algenwachstums zu messen. Die wenigen Untersuchungen, die sich mit der Sensibilität von Bodenalgarten beschäftigen, stellen unterschiedliche Sensibilitäten von verschiedenen Spezies gegenüber Herbiziden fest.

1.3 Problemstellungen und Ziele

Die Erkenntnisse über die vielfältigen Funktionen der Bodenalgarten, ihre Artenvielfalt und hohen Abundanzen sowie die geringen Erfahrungen mit Bodenalgarten als Biotestorganismen gegenüber der Bedeutung aquatischer Algen und die zunehmende Verwendung des DIN-Algentests für die Bewertung von Bodeneluat zeigen, daß eine intensivere Bearbeitung der Bodenalgarten, deren Prüfung als Biotestorganismen und die Entwicklung von Biotests mit Bodenalgarten erforderlich sind.

Besonders die Untersuchung von Pflanzenschutzmitteln und neu zu bewertenden Chemikalien mit nur einer Algenart (*Scenedesmus subspicatus* bzw. *Selenastrum capricornutum* oder beim OECD 201 Test *Chlorella vulgaris*) in einem Flüssigmedium wird als kritisch angesehen.

Aus ökotoxikologischer Sicht wäre es sinnvoll, Stoffe, die zu einem gewissen Anteil auch in den Boden gelangen können, besser mit Bodenalgarten als mit aquatischen Algen zu bewerten. Weiterhin ist fraglich, ob anhand einer einzelnen Algenart eine tendenzielle Aussage über ökotoxische Auswirkungen auf die gesamte Gruppe der Algen getroffen werden kann.

Ein Biotestsystem, das zum einen die Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus* als Testorganismus enthält und zusätzlich auch verschiedene Bodenalgarten einbezieht, kann eine wichtige Ergänzung der Biotests sein, die im Rahmen des Pflanzenschutzgesetzes und Chemikaliengesetzes durchgeführt werden. Damit stünde für die Untersuchung von Böden

und Bodeneluaten ein Biotestsystem zur Verfügung, das Aussagen über die ökotoxischen Auswirkungen von Stoffen auf autotrophe Bodenmikroorganismen macht.

Ein derartiges Biotestsystem mit verschiedenen Bodenalgenarten und unterschiedlichen Nährmedien ist zur Zeit noch nicht beschrieben worden.

In der vorliegenden Arbeit wird folgenden Fragen nachgegangen:

1. In welchen Abundanzen kommen Bodenalgen in nährstoffarmen sowie in unbelasteten und belasteten Böden vor?
2. Eignen sich Bodenalgen für die Entwicklung von Biotestsystemen zur Bewertung von Testsubstanzen (z. B. Schwermetallen und Pflanzenschutzmitteln)?
3. Wie verhält sich das Wachstum verschiedener Algenspezies, die sich in ihrer Zellgröße, Wachstums- bzw. Vermehrungsart unterscheiden, unter dem Einfluß der Testsubstanz Cadmiumchlorid und des Pflanzenschutzmittels Arelon (Wirkstoff: Isoproturon)?
4. Unterscheiden sich die Ergebnisse der entwickelten Biotests von Ergebnissen, die mit dem DIN-Algentest „Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum*“ gewonnen wurden?
5. Welche Auswirkungen hat ein unsteriler, naturnaher Boden auf die Vermehrung von Algen bei den Testsubstanzen Cadmiumchlorid und Isoproturon in einem Biotest gegenüber einem Test mit einem Flüssigmedium?

Es werden zwei Algenisolierungsversuche vorgestellt und zwei neuentwickelte, sich ergänzende Monospezietests mit Bodenalgen und der Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus*, die diese Fragen beantworten.

1.4 Testsubstanzen

Testsubstanz war Cadmium, in Form von Cadmiumchlorid, eines der toxischsten Schwermetalle (Koch 1995 und s. Anhang, S. 124). Es wird durch Einträge aus dem Straßenverkehr (Coester et al. 1996), industriellen Emissionen (Merian 1991, Bätcher 1995) oder durch Aufbringung von Klärschlämmen oder Klärwässern (Burhenne 1996) auf landwirtschaftliche Nutzflächen im Boden und damit auch in Nahrungsmitteln (Salt 1988) angereichert. Man geht inzwischen davon aus, daß Cadmium ein krebsförderndes Potential beim Menschen hat (Sorbe 1988). In den westlichen Industrieländern hatte der Cadmiumgesamtverbrauch im Jahr 1989 mit 16 901 t einen Höchstwert erreicht. Zu diesem Zeitpunkt lag der Cadmiumverbrauch in Deutschland bei 886 t. Cadmium wird besonders in Ni/Cd-Akkumulatoren, im Pigment- und Stabilisatorbereich sowie in der Galvanotechnik eingesetzt (Bätcher 1995).

Als weitere Testsubstanz wurde das Pflanzenschutzmittel Arelon (Wirkstoff: Isoproturon) gewählt (s. Anhang, S. 125). In der vorliegenden Arbeit wird im folgenden vom Wirkstoff Isoproturon gesprochen und nicht vom eingesetzten Arelon. Die angegebenen Werte beziehen sich auf Isoproturon. Es wird als selektives Vor- und Nachaufbauherbizid gegen Gräser in

Winterweizen sowie gegen Kamille und Vogelmiere eingesetzt. Für 1987 schätzt man, daß auf einer Fläche von 1 095 200 Hektar und 1994 auf 2 259 200 Hektar Isoproturon ausgebracht wurde. 1994 war es das am häufigsten eingesetzte Herbizid in Deutschland (Gutsche & Roßberg 1997). In den Jahren von 1990 bis 1996 gehörte Isoproturon zu den meistabgegebenen Herbizidwirkstoffen mit über 1 000 t/a (mündl. Mitteilung, Schmidt 1999). Es wird in anderen Ländern ebenfalls in größeren Mengen im landwirtschaftlichen Bereich eingesetzt (Kulshrestha & Singh 1995). Durch den intensiven Einsatz von isoproturonhaltigen Mitteln gehört das Isoproturon zu den Wirkstoffen, die immer wieder in Oberflächengewässern und im Grundwasser nachgewiesen werden können. Hoff et al. (1992) entdeckten bei Untersuchungen zweier Flüsse in Belgien mit ihren 10 Nebenflüssen, daß Isoproturon das am häufigsten nachweisbare Herbizid war. Fischer et al. (1998) konnten für ländliche Kläranlagen nachweisen, daß in Zeiten des steigenden Einsatzes von Isoproturon im agrarwirtschaftlichen Bereich ebenfalls in Kläranlagen eine Erhöhung der Isoproturonkonzentration im Wasser festzustellen war, die mit einer unsachgemäßen Gerätereinigung in Verbindung gebracht werden konnte. Kreuger (1998) untersuchte von 1990 bis 1996 in einem kleinen landwirtschaftlich genutzten Gebiet im südlichen Schweden Pflanzenschutzmittelkonzentrationen in Oberflächengewässern und konnte an verschiedenen Untersuchungsorten mit bis zu 100 Probennahmen in 10 % bis 60 % der Proben Isoproturonkonzentrationen messen, die durchschnittlich bei 0,2 µg/l lagen. Gatzweiler und Schiller (1998) gaben einen Überblick über Wasser-Monitoring-Daten zu Isoproturon in Deutschland und stellten eine sehr geringe Fundhäufigkeit für Isoproturon im Grundwasser mit einer Durchschnittskonzentration von 0,01 µg/l Grundwasser fest. Höher lag der Anteil von Funden in Oberflächengewässern mit einer durchschnittlichen Isoproturonkonzentration von 0,1 µg/l Wasser. Seit 1.10.1989 ist der in der Trinkwasserverordnung (Rainer & Burkhard 1991) aufgeführte Grenzwert für Pflanzenschutzmittel von 0,1 µg/l pro Einzelwirkstoff gültig. Die Festlegung dieses Wertes beruht nicht in erster Linie auf toxikologischen Untersuchungen, sondern wurde so niedrig festgelegt, um keine Gefährdung für die menschliche Gesundheit beim Verbrauch von Trinkwasser befürchten zu müssen (Hock et al. 1995).

Für beide Stoffe gibt es Untersuchungen mit dem DIN-Algentest oder anderen Algentests, so daß ein Vergleich dieser Daten mit den Ergebnissen, die mit dem neu entwickelten Bodenalgentestsystem gewonnen wurden, möglich ist. Damit sind Cadmium und Isoproturon für die Erprobung neu entwickelter Biotests besonders geeignet.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Bodenproben

Es wurden fünf Orte ausgewählt, um Bodenalgae zu isolieren. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Böden keine Schadstoffbelastungen aufwiesen. Dadurch war gewährleistet, daß die isolierten Algen keine Toleranzen oder Resistenzen gegenüber Schadstoffen entwickeln konnten. Nur in einem Fall wurde eine belastete Fläche beprobt, um die Sensibilität von Algen gegenüber Blei und Cadmium im Boden zu untersuchen. Von den untersuchten Versuchsflächen wurden folgende zwei mit mehreren Bodenproben auf ihre Algenabundanzen und Bodenparameter untersucht:

1. Schwermetallversuchsfläche: Gelände der Biologischen Bundesanstalt in Berlin.
2. Darßer Ort: Nahe dem Ostseebad Prerow.

Für die weiteren Flächen wurden nur punktuell Bodenproben entnommen und Algen isoliert.

3. Erdbeerbeet- und Gemüsebeetfläche: Gelände der Biologischen Bundesanstalt in Berlin. Diese Flächen wurden seit drei Jahrzehnten nicht mehr mit Pflanzenschutzmitteln bearbeitet und nur mit Stallmist gedüngt.
4. Insel Vilm: Boden eines ca. 300 Jahre alten Waldes. Dieser Boden konnte als unbelastet eingestuft werden, da der Wald dieser Insel naturbelassen und unbewirtschaftet ist.
5. Insel Hiddensee: Boden von einer Abbruchkante der Steilküste auf Hiddensee bei Kloster. An dieser Stelle war die Erde grünlich gefärbt und sehr feucht, da in diesem Bereich versickertes Regenwasser aus der Steilküste austrat. Eine Schadstoffbelastung des Bodens konnte aufgrund der Tiefe (ca. 15 m), aus der der Boden stammte, ausgeschlossen werden.

In dieser Arbeit werden alle isolierten Algen aus den verschiedenen Versuchen, die zur Reinkultur aufgearbeitet wurden, in Tab. 10 (s. S. 41) aufgeführt. Eine Beschreibung der Isolierungsversuche wird nur für die Schwermetallflächen und die Böden vom Darßer Ort gegeben.

2.2 Isolierung von Bodenalgae

Material für die Probenahme

- Gefrierbeutel zum Transport der Bodenproben
- Schaufel mit flacher Schaufelfläche (Breite: 10 cm)
- Bodenstecher (Durchmesser: 2,5 cm)
- 70%iger Alkohol
- Kühltasche, Kühlelemente

Material für die Untersuchungen im Labor

- Goldfilter der Firma Rittergold, Schlitzgröße: $2\,900\,\mu\text{m} \pm 2\,\mu\text{m} \times 100\,\mu\text{m} \pm 20\,\mu\text{m}$
- Kulturraum mit Beleuchtungseinrichtung (Osram L, 40 W/30, Warmton, Beleuchtungsstärke ca. 2 500 lx) und Temperaturregulierung von 15 °C bis 25 °C
- Stereolupe mit 10facher Vergrößerung
- Modifiziertes (erhöhter Einführschlitz, so daß Mikrotiterplatten mit Deckel gemessen werden können) Mikrotiterplattenphotometer (MRX; Firma: Dynatech)
- Sterilbank
- Petrischale ohne Nocken
- Aluminiumpapier
- Drigalskispatel
- Agar (Oxoid L 13)

Medium

Bold's Basal Medium (BBM, Bischoff & Bold 1963); Stammlösungen:

- | | |
|--|--------|
| 1. NaNO_3 | 10,0 g |
| 2. K_2HPO_4 | 3,0 g |
| 3. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,0 g |
| 4. KH_2PO_4 | 7,0 g |
| 5. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 3,0 g |
| 6. NaCl | 1,0 g |

Die 6 Stammlösungen werden mit je 400 ml Aqua dest. angesetzt. 10 ml von jeder Stammlösung werden mit 940 ml Aqua dest. vermengt und jeweils 1 ml der folgenden 4 Spurenelementlösungen dazugegeben.

Spurenelementlösungen:

1. 50,0 g EDTA und 31,0 g KOH in 1 000 ml Aqua dest. gelöst;
2. 4,98 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ gelöst in 1 000 ml angesäuertem Aqua dest. (1,0 ml H_2SO_4 konz. ad 1 000 ml Aqua dest.);
3. 11,42 g H_3BO_3 gelöst in 1 000 ml Aqua dest.;
4. Folgende Salze gelöst in 1 000 ml Aqua dest.:

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,82 g
MoO_3	0,71 g
$\text{Co}(\text{NO}_3) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,49 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,44 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,57 g

Das Flüssigmedium wird mit ca. 1,5 % Agar verfestigt und bei 121 °C und 0,12 MPa = 1,2 bar 20 min autoklaviert. Der pH-Wert liegt bei $6,4 \pm 0,2$.

Methode

Mit der Agarplattenmethode kann ein großes Spektrum der im Boden vorkommenden Algen erfaßt und Zellmaterial zur Kultivierung von Reinkulturen zur Verfügung gestellt werden.

1. Entnahme einer definierten Menge Boden. Dabei ist darauf zu achten, für welche Fläche man einen Wert bzw. Durchschnittswert für die Algenabundanz erhalten möchte. Grundsätzlich gilt für die mikrobiologische Charakterisierung eines Bodens, daß die Zahl der Einzelproben pro Untersuchungsfläche gar nicht groß genug sein kann (Alef 1991). Für viele chemische und physikalische Parameter geben Weitz et al. 1993 einen Stichprobenabstand von ca. 30 m für größere Flächen an. Für die mikrobiologische Untersuchung geht Alef (1991) bei Flächen von z. B. 500 m² von ca. 100 Stichproben aus. Für kleinere Flächen ist je nach Bodenbeschaffenheit (z. B. Ackerfläche oder Waldboden) der Stichprobenumfang im Verhältnis zur Fläche größer, da der Abstand zwischen den Stichproben sich verringern muß. In vorliegender Arbeit lagen aufgrund der kleinen Versuchsflächen die Stichproben in Abständen von wenigen Zentimetern (s. Kap. 2.3.2, S. 25 und Fototafel 1, Bild 1, S. 24). Eine Anleitung zur Probenahme für die Feststellung der Bodenbeschaffenheit gibt die DIN ISO 10381-1 und für die Probenahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Bestimmung aerober mikrobieller Prozesse unter Laborbedingungen die DIN ISO 10381-6.
2. Die Proben wurden bei ca. 4 °C ins Labor transportiert und innerhalb von 48 h weiterverarbeitet.
3. Jede Bodenprobe wurde 10 min mit einem Löffel homogenisiert. Anschließend wurden im naturfeuchten Zustand ca. 150 g Boden dreimal durch ein 2 mm-Sieb gesiebt.
4. Von dieser naturfeuchten gesiebten Erde wurden pro Boden jeweils zweimal 10,0 g abgenommen und in Bechergläsern aufbewahrt. Aus diesen Bodenproben wurden der Trockensubstanzwert und der Wassergehalt bestimmt. Dies war nötig, um die mit der Agarplattentechnik bestimmte Algenzellzahl (bzw. Zahl der koloniebildenden Einheiten, auch: colony forming units = cfu) auf die Algenzellzahl pro kg TS Boden umzurechnen.
5. Für die mikrobiologische Untersuchung der Böden wurde in einem Vorversuch die ungefähre Algendichte ermittelt. Dadurch konnte beim Ansetzen der Bodensuspension eine Verdünnung ausgewählt werden, die zu einer auszählbaren Algenkoloniezahl von ca. 100 bis 1 000 pro Petrischale führte. Diese Zahl konnte auf ca. 1 500 erhöht werden, wenn Kenntnisse darüber bestanden, daß keine intensiv zoosporenbildenden Algen in diesem Boden vorkamen, die zum Zerlaufen und Überwachsen anderer Kolonien hätten führen können.
6. Je nach Algendichte im Boden wurden 2,5 g bis 10,0 g (bei sandigen trockenen Böden bis 30,0 g) naturfeuchter Boden je Bodenprobe in 125 ml BBM-Flüssigmedium in einen Erlenmeyerkolben gegeben.
7. Die Bodensuspension wurde zwei Stunden im Überkopfschüttler bei Stufe 5 (ca. 15 U/min) geschüttelt und anschließend durch einen sterilen Goldfilter (Kaffeedauerfilter)

gegeben. Anschließend wurde mit 125 ml BBM-Medium nachgespült, so daß der Boden insgesamt in 250 ml BBM-Medium verdünnt war.

8. Die Bodensuspension wurde mit einem sterilen Magnetrührer durchmischt und aus dieser aufgewirbelten Lösung immer an derselben Stelle im Wirbel 50 µl bis 1 000 µl abgenommen und auf einer Petrischale mit BBM-Agar vorsichtig mit einem sterilen Drigalskispatel ausplattiert. Ab 500 µl bis 1 000 µl wurde die Suspension nur durch Schwenken der Petrischale auf dem Agar verteilt und ca. 30 min unter der Clean Bench der Agar „getrocknet“.
9. Pro Bodenprobe wurden 4 bis 8 Petrischalen beimpft und bei 15 °C in einem Kulturraum mit ca. 2 500 lx, Warmton, mit 12 Stunden-Rhythmus hell-dunkel kultiviert.

Auswertung

Nach ein bis zwei Wochen waren die Algenkolonien als kleine Punkte erkennbar, und nach drei bis vier Wochen fand die Auswertung statt, für die alle Algenkolonien, die mit Hilfe einer Stereolupe bei 10facher Vergrößerung zu erkennen waren, gezählt wurden. Fototafel 1, Bild 3 (s. S. 24) gibt einen Eindruck des Wachstums von Algenkolonien auf Agarpetrischalen.

Es wurde die Gesamtalgenkoloniezahl (ohne Cyanobakterien, aber mit Kieselalgen) und zusätzlich die Anzahl der Kieselalgenkolonien und der Cyanobakterienkolonien bestimmt. Die Auszählung der Cyanobakterienkolonien (s. Fototafel 1, Bild 2, S. 24) fand nach ca. 6 bis 8 Wochen statt.

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse wurden SAS¹-Programme zur Varianzanalyse und zum Dunett-Test genutzt.

Zur Bestimmung einzelner Arten wurde aus der Vielzahl von Kolonien Algenmaterial mit einer Impföse abgenommen und die Algenzellen per Verdünnungsausstrich auf Agarpetrischalen vereinzelt. Nach mehrmaliger Wiederholung dieses Verfahrens konnten die vorliegenden Klonkulturen mikroskopisch bestimmt werden. Die mikroskopische Bestimmung bzw. Nachbestimmung der Kulturen wurde teilweise am Institut für Botanik der Universität Innsbruck durchgeführt, zu dem eine der europaweit größten Bodenalgensammlungen gehört.

¹ SAS® ist eingetragenes Warenzeichen von SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA

Fototafel 1

Bild 1: Abbildung einer Beprobungsparzelle mit einem schwermetallhaltigen Boden.



Bild 2: Foto eines Teils einer Cyanobakterienkolonie auf Agar.

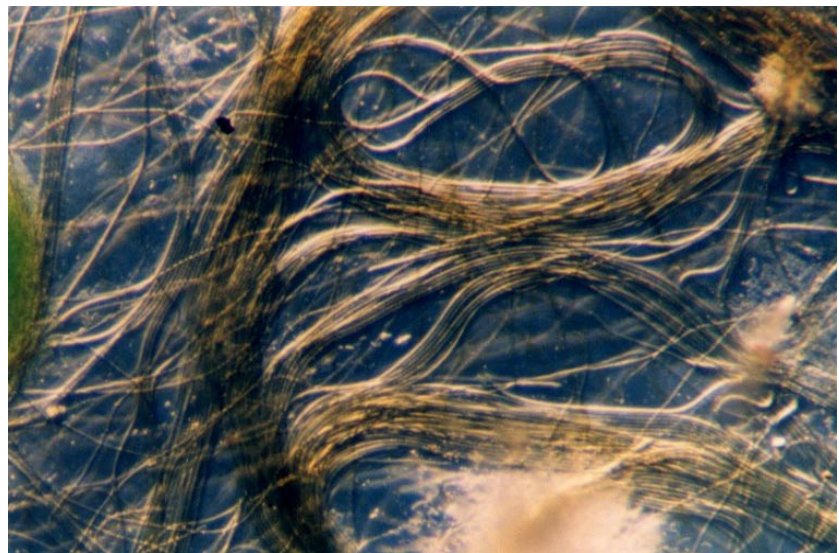
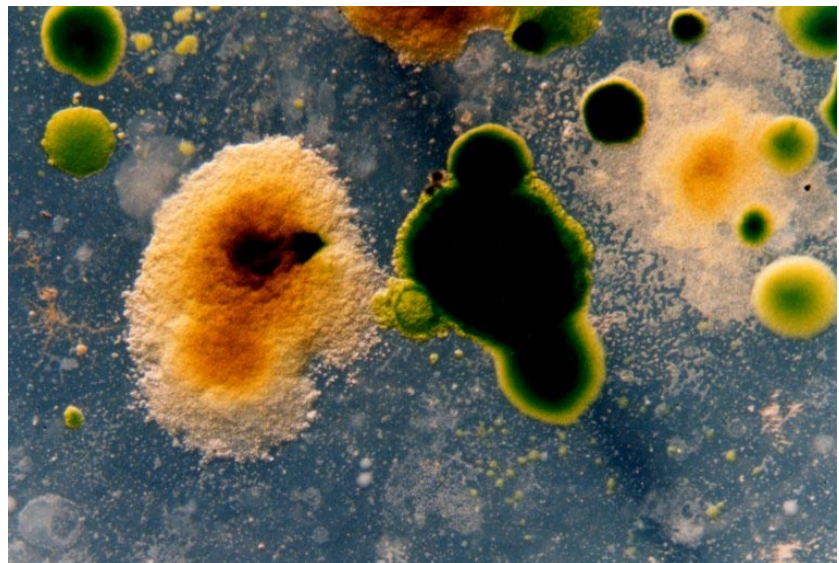


Bild 3: Kolonien von Bodenalgae auf Agar. Die Kieselalgen sind durch ihre bräunliche Färbung erkennbar.



2.3 Bodenalgen aus belasteten und unbelasteten Böden

2.3.1 Bodenanalytische Methoden

Folgende bodenanalytische Untersuchungen wurden für die Böden der Schwermetallparzellen und die Böden am Darßer Ort durchgeführt:

- pH-Wert-Bestimmung nach DIN 19 684 Teil 1, Blatt 31 (CaCl_2)
- Bestimmung der Trockensubstanz nach DIN 19 683 Teil 4 (105 °C bis zur Gewichtskonstanz), Doppelbestimmung
- Bestimmung des Wassergehaltes nach DIN 19 683 Teil 4, Doppelbestimmung
- organische Substanz nach DIN 19 684 Teil 3 (Glühverlust), Doppelbestimmung
- Bestimmung des Gesamtschwermetallgehaltes nach DIN 38 414 Teil 7 (Königswasseraufschluß)
- Extraktion leicht löslicher Spurenelemente (Aufschluß mit 0,1 molare CaCl_2 Lösung, Methodenhandbuch Bodenschutz III. 1 E-6).

Folgende Untersuchungen wurden nur im Schwermetallversuch 1996 und im Isolierungsversuch Darßer Ort durchgeführt:

- Bestimmung des C/N-Verhältnisses per Elementaranalysator (Analysensystem: Vario Ele), Doppelbestimmung
- Ermittlung der Leitfähigkeit (VDLUFA-Methodenbuch 1991)
- Bestimmung des Gesamtstickstoffgehaltes in Böden per Elementaranalysator
- N_{\min} -Labormethode - Bestimmung des Nitratstickstoffgehaltes (VDLUFA-Methodenhandbuch 1997), Untersuchung per Elementaranalysator (nur im Schwermetallversuch 1996).

Die genannten Untersuchungen wurden überwiegend von Mitarbeitern des Institutes für ökologische Chemie der BBA durchgeführt.

2.3.2 Isolierungsversuche von schwermetallhaltigen Böden

1995 und 1996 wurde je ein Versuch durchgeführt.

Versuchsfläche

Die Versuchsfläche war eine Versuchsanlage, die 1982 in Parzellen mit der Größe 1 m² angelegt und künstlich mit Schwermetallen belastet wurde. Seitdem wurden verschiedene Pflanzen angebaut und die Fläche wie ein Feld bewirtschaftet.

Probenahme

Die Daten der Probenahme von den beiden Versuchen sind in Tab. 2 dargestellt.

Tab. 2: Beschreibung der Probenahme

Versuch	Probenahmezeitpunkt und -bedingungen	beprobte Parzellen und Tiefen	Bemerkungen
1995	<ul style="list-style-type: none"> - Ende Oktober - trockene sonnige Witterung - ca. 3 Wochen Brachzeit vor Probenahme 	<ul style="list-style-type: none"> - je zwei Parzellen pro Belastungsstufe - zwei Tiefen (0 cm bis 1 cm und 0 cm bis 5 cm) 	<ul style="list-style-type: none"> - nur für die Kontrolle wurden vier Parzellen beprobt - ca. 1 kg Boden pro Probe entnommen
1996	<ul style="list-style-type: none"> - Anfang November - trockene Witterung - ca. 3 Wochen Brachzeit vor Probenahme 	<ul style="list-style-type: none"> - je vier Parzellen einer Belastungsstufe - eine Tiefe (0 cm bis 5 cm) 	<ul style="list-style-type: none"> - ca. 1 kg Boden pro Probe entnommen

Die Beprobung für die Tiefe von 0 cm bis 1 cm wurde mit einer kleinen Schaufel (Breite ca. 10 cm) mit geradem Boden in einem 10 cm breiten Streifen diagonal über die Parzelle durchgeführt (s. Fototafel 1, Bild 1, S. 24).

Die Beprobung für 0 cm bis 5 cm Bodentiefe wurde mit einem Bodenstecher (Durchmesser 2,5 cm) ebenfalls diagonal in zwei Reihen über die Parzelle mit 40 Einstichen 1995 und 20 Einstichen 1996 durchgeführt (s. Fototafel 3, Bild 3, S. 45). Die 20 bis 40 Einstiche wurden jeweils zu einer Mischprobe vereint.

Die Versuchsdaten zur mikrobiologischen Aufarbeitung des Bodens sind in Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3: Versuchsdaten zur mikrobiologischen Aufarbeitung des Bodens

Versuch	Erdsuspension – naturfeuchter Boden in 250 ml BBM-Medium	Beimpfungsmenge pro Petrischale	ausgewertete Petrischalen
1995	5,0 g	1 000 µl	8
1996	2,5 g	1 000 µl	4

Bodencharakterisierung

Der Versuchsboden in den Parzellen war ein schluffiger Sand und wies folgende Bodenparameterwerte auf: 5,7 % Ton, 21,2 % Schluff, 73,1 % Sand, 2,5 % organische Substanz und pH-Wert 5 bis 6. In die ausgewählten Parzellen wurden 1982 Cadmium als Cadmiumchlorid ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) und Blei als Bleichlorid (PbCl_2) in je zwei Konzentrationsstufen eingebracht (Cd I: 50 mg/kg und Cd II: 200 mg/kg und Pb I: 1 000 mg/kg und Pb II: 4 000 mg/kg). Je Schwermetall und Konzentrationsstufe wurden vier Parzellen angelegt.

In vorliegender Arbeit wurden die Schwermetallgehalte sowie weitere Bodenelemente und Bodenparameter für die Parzellen mit Cadmium und Blei zum gegenwärtigen Zeitpunkt bestimmt. Aus Übersichtlichkeitsgründen sind die Ergebnisse für Cadmium und Blei nicht im Ergebnisteil, sondern hier aufgeführt (Tab. 4). Die detaillierten Ergebnisse für weitere Schwer-

metalle, die Bodenelemente und Bodenparameter befinden sich in Tab. A1 und A2 (s. S. 113 und 114).

Tab. 4: Gesamtschwermetallgehalte (Königswasseraufschluß) und CaCl_2 -lösliche Fraktionen in mg/kg TS Boden (Tiefe: 0 cm bis 5 cm). Fett gedruckt sind die erhöhten Schwermetallkonzentrationen, K l und K r (Kontrollparzellen im linken und rechten Bereich der Versuchsanlage).

Parzelle	Cd	Pb	Cd	Pb
	Gesamt		CaCl_2	
K l/1	6,3	30,0	0,7	0,0
K l/2	7,0	31,0	0,4	0,0
K r/1	5,9	28,0	1,0	0,0
K r/2	6,7	34,0	0,7	0,0
Cd I/1	46,3	30,0	6,9	0,1
Cd I/2	39,8	28,0	4,9	0,1
Cd II/1	181,0	29,0	23,7	0,1
Cd II/2	169,0	29,0	17,3	0,1
Pb I/1	7,1	951,0	0,6	0,3
Pb I/2	5,9	905,0	0,9	0,3
Pb II/1	6,2	3 890,0	0,5	0,5
Pb II/2	5,8	3 329,0	1,2	1,3

Bis auf die Blei- und Cadmiumwerte lagen die Konzentrationen anderer Schwermetalle im üblichen Rahmen für Böden. Im Durchschnitt betrug in allen Parzellen der Wassergehalt 11,5 %, die Leitfähigkeit 48 μS , der Gesamtstickstoffgehalt 1 070 mg/kg TS Boden, der mineralische Stickstoffgehalt ca. 470 mg/kg TS Boden, die organische Substanz 2,8 %, der pH-Wert 5,8 und das Kohlenstoff/Stickstoff-Verhältnis 13. Die Schwankungen der Werte zwischen den einzelnen Parzellen waren gering (s. Tab. A2 und A3, S. 114 und 115).

2.3.3 Isolierungsversuch am Darßer Ort

Versuchsfläche

Der Darßer Ort ist die nördlichste Landzunge auf dem Darß westlich von Prerow und Zingst. Diese Landzunge hat sich über die Jahrhunderte durch die Strömungsbedingungen der Ostsee und deren Sandfrachten, die sich in diesem Bereich ablagerten, gebildet. Die zwei beprobten Stellen D5 und D6 sind überwiegend mit Kiefern, Heide, Gräsern und Flechten bewachsen.

Probenahme

Die Bodenproben wurden an einem warmen (25 °C) Apriltag genommen. An den Tagen davor lagen die Temperaturen um den Gefrierpunkt. Die Böden waren ausgetrocknet und die obersten Zentimeter bestanden überwiegend aus Sand.

An jedem Probenahmeort wurden aus einem 2 m langen und ca. 12 cm schmalen Rechteck 8 im Abstand von ca. 20 cm liegende rechteckige Erdquader (Breite ca. 12 cm, Länge ca. 7 cm und Tiefe ca. 5 cm) entnommen.

Die Versuchsdaten zur mikrobiologischen Aufarbeitung des Bodens sind in Tab. 5 dargestellt. Es wurden 8 Petrischalen in zwei Konzentrationsstufen beimpft, aber nur je 4 einer Konzentrationsstufe ausgewertet.

Tab. 5: Versuchsdaten zur mikrobiologischen Aufarbeitung des Bodens

Bodenproben	Erdsuspension – naturfeuchter Boden in 250 ml BBM-Medium	Beimpfungsmenge pro Petrischale	ausgewertete Petrischalen
D 5/1-8	30,0 g	50 und 100 µl	4
D 6/1-8	10,0 g	50 und 100 µl	4

Bodencharakterisierung

In vorliegender Arbeit wurden die Schwermetallgehalte sowie weitere Bodenelemente und Bodenparameter für die beprobten Stellen untersucht. Aus Übersichtlichkeitsgründen sind die Ergebnisse nicht im Ergebnisteil, sondern hier aufgeführt. In Tab. 6 sind die Gesamtschwermetallgehalte (Königswasseraufschluß), die calciumchloridextrahierbaren Schwermetallgehalte und weitere Bodenelemente aus je 2 Mischproben (z. B. D 5/1-4 und D 5/5-8) pro Probenahmeort dargestellt. Arsen war in keiner Probe nachweisbar.

Tab. 6: Ergebnisse der Bodenanalytik des Isolierungsversuchs Darßer Ort; n. n. (nicht nachweisbar), * (Meßwerte im Bereich des Blindwertes)

	Hg	Cd	Pb	Zn	Cr	Co	Ni	Cu	Mn	Fe	V	B	K	Ca	Mg	P
Probe	Königswasseraufschluß in mg/kg TS Boden															
D 5/1-4	0,020	0,05	2,9	5,0	*1,0	0,2	*0,5	*5,0	12,0	509,0	1,0	1,0	93,0	351,0	182,0	54,0
D 5/5-8	0,007	0,06	3,1	7,0	*1,0	n.n.	*0,4	*5,0	11,0	552,0	1,2	0,9	94,0	293,0	173,0	52,0
D 6/1-4	0,003	0,06	n.n.	5,0	4,0	0,2	0,6	*5,0	19,0	650,0	1,4	4,8	111,0	1 159,0	302,0	105,0
D 6/5-8	0,005	0,11	2,8	8,0	2,0	0,3	0,6	6,0	19,0	764,0	1,5	1,7	122,0	862,0	307,0	119,0
	CaCl ₂ -Extraktion in mg/kg TS Boden															
D 5/1-4	n.n.	0,01	0,20	1,0	n.n.	n.n.	0,02	0,08	2,4	1,28	n.n.	*0,03	6,0	/	10,0	2,0
D 5/5-8	n.n.	0,01	0,40	1,6	n.n.	n.n.	0,03	0,04	2,1	1,97	n.n.	*0,04	8,0	/	11,0	2,0
D 6/1-4	n.n.	n.n.	n.n.	0,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,0	0,45	n.n.	0,44	11,0	/	64,0	1,0
D 6/5-8	n.n.	0,03	n.n.	1,0	n.n.	n.n.	0,02	0,07	1,7	0,88	n.n.	0,30	22,0	/	72,0	1,0

In Tab. 7 sind weitere Ergebnisse der Bodenanalytik dargestellt. Bei Leitfähigkeit, organischer Substanz und Wassergehalt (W_w) wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Tab. 7: Ergebnisse der Bodenanalytik des Isolierungsversuchs Darßer Ort 1996; W_w (Wassergehalt), C/N (Kohlenstoff/Stickstoff-Verhältnis)

Probe	Leitfähigkeit in μS	N-Gesamt in mg/kg TS Boden	C/N	org. Sub. in %	W_w in %	pH- CaCl_2
D 5/1	18,0	507,0	14,4	1,5	3,17	4,1
D 5/2	17,0	220,0	13,2	0,6	2,07	4,3
D 5/3	17,5	441,0	15,6	1,4	2,96	4,2
D 5/4	19,5	545,0	15,2	1,7	2,77	4,3
D 5/5	17,0	486,0	14,8	1,4	2,78	4,3
D 5/6	15,0	465,0	15,1	1,4	2,65	4,0
D 5/7	19,0	693,0	16,2	2,2	3,00	4,0
D 5/8	16,5	443,0	15,1	1,3	2,90	3,8
D 6/1	37,0	536,0	13,4	1,4	7,82	6,5
D 6/2	42,5	539,0	12,4	1,3	7,12	6,7
D 6/3	36,0	458,0	11,8	1,1	5,91	6,7
D 6/4	30,0	199,0	11,1	0,4	4,46	6,5
D 6/5	23,5	365,0	11,2	0,8	1,89	6,5
D 6/6	25,0	276,0	11,6	0,6	1,38	6,6
D 6/7	27,0	173,0	10,4	0,4	2,75	6,2
D 6/8	42,0	2 877,0	12,7	7,3	10,25	5,0

Die Schwermetallgehalte und Gehalte weiterer Bodenelemente lagen bei beiden Probenahmeorten in niedrigen Bereichen und teilweise unterhalb der Nachweisgrenze. Der Boden des Probenahmeortes D 5 (s. Fototafel 2, Bild 1 und 2, S. 30) war ein sandiger und schnell austrocknender Boden, der geringe Werte an organischer Substanz aufwies und dessen pH-Wert im sauren Bereich lag (s. Tab. 7). Dieser Boden war aufgrund seiner geringen Nährstoff- und Spurenelementgehalte als nährstoffarmer Boden einzustufen. Im Boden des Probenahmeortes D 6 waren teilweise die Nährstoff- und Spurenelementgehalte etwas höher als in D 5. Dieser Boden war stärker mit Gräsern bewachsen (s. Fototafel 2, Bild 3, S. 30). Der pH-Wert lag zwischen 6 und 7, mit Ausnahme bei Probe D 6/8. Probe D 6/8 wies einen höheren organischen Substanzgehalt auf, und es waren gegenüber den sieben anderen Bodenproben der N-Gesamtgehalt, die Leitfähigkeit und der Wassergehalt erhöht. Der pH-Wert lag bei 5.

Diese Untersuchung zeigte, daß in kleinräumigen Bereichen von ca. 12 cm x 2 m teilweise höhere Schwankungen der Bodenparameter (z. B. pH-Schwankungen von ca. 2 bei Standort D 6) vorkamen, obwohl bei der Probenahme darauf geachtet wurde, daß die Probenahmebereiche keine großen Unterschiede in Bewuchs und Streu aufwiesen.

Fototafel 2**Bild 1: Probenahmeort**

D 5. Links neben dem Zollstock befinden sich die 8 Probeneinstiche.



**Bild 2: Einstichstellen
von D 5.** Sandiger Boden
mit schwachem Bewuchs.

**Bild 3: Probenahmeort**

D 6. Sandiger Boden mit stärkerem Bewuchs gegenüber D 5. Links neben dem Zollstock liegen die 8 Probeneinstiche.



2.4 Der Gel- und Boden-Biotest

Material für den Gel-Biotest

- 96-Kavitäten-Mikrotiterplatten
- Mikrotiterplattenphotometer mit erhöhtem (2,2 cm) Einführschlitz; dadurch ist die Messung von Platten mit Deckel möglich sowie die Messung von Zellkulturplatten
- Mikroskop
- Bechergläser
- Clean Bench
- pH-Meßgerät, pH-Boy PocketFet (Fa. Euro Physics)
- sterile 100 ml Kolben
- Sterilfilter, Größe: 0,2 µm
- Zelloählkammer (Neubauer, 0,1 mm Tiefe)
- Pipetten, 100 µl und 1 000 µl
- Agar (Oxoid L13)
- die entsprechenden Testsubstanzen
- Aqua dest., steril
- Kulturraum mit Beleuchtung (Osram L, 40 W/30, Warmton, Beleuchtungsstärke ca. 8 000 lx bzw. $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) und Temperaturregulierung von 15 °C bis 25 °C

Material für den Boden-Biotest

- 48-Kavitäten-Mikrotiterplatte mit flachem Boden und sterilem Deckel (FA. Greiner)
- schmale Spatel, steril
- Überkopfschüttler
- Überkopfschüttelkolben mit Stopfen
- Sterilbank
- Magnetrührer
- Pipette 100 µl - und 1 000 µl Spitzen
- Goldfilter der Firma Rittergold, Schlitzgröße: $2\,900 \mu\text{m} \pm 2 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m} \pm 20 \mu\text{m}$
- Bechergläser
- Aluminiumpapier
- Agar (Oxoid L13)
- Zelloählkammer (Neubauer, 0,1 mm Tiefe)
- Mikroskop Axioplan (FA. Zeiss)
- pH-Meßgerät, pH-Boy PocketFet (Fa. Euro Physics)
- Kulturraum mit Beleuchtung (Osram L, 40 W/30, Warmton, Beleuchtungsstärke ca. 8 000 lx bzw. $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) und Temperaturregulierung von 15 °C bis 25 °C

- die entsprechenden Testsubstanzen
- Aqua dest., steril
- Biotestalgen
- BBA-Versuchsboden

Der BBA-Versuchsboden kommt vom Gelände der Biologischen Bundesanstalt in Berlin und ist ein schwach humoser schluffiger Sand. Die organische Substanz beträgt 1,8 %, Ton 9,6 %, Schluff 38,2 %, Sand 52,2 %, pH-Wert 7,5 und die maximale Wasserkapazität 22,8 ml/100 g TS Boden. Der Boden wurde auf Pflanzenschutzmittelrückstände und Schwermetalle untersucht und konnte als unbelastet eingestuft werden (Pestemer & Pucelik-Günther 1999).

Medien für den Gel- und Boden-Biotest

- BBM-Medium (1,5 % Agar) für Stammkulturen (s. Kap. 2.2, S. 21)
- OECD-Medium (1,5 % Agar) für Vorkultur
- OECD-Medium (flüssig) zum Schütteln
- OECD-Medium (gelartig, 0,06 % Agar)

Das OECD-Medium aus dem OECD 201 Biotest entspricht dem in der DIN 28 692 bzw. dem in der EU Richtlinie L 383 A, C3 beschriebenen Testmedium.

Vorratslösungen für OECD-Medium:

Lsg. 1	NH ₄ Cl	1,5	g
	KH ₂ PO ₄	0,16	g
	MgSO ₄ · 7 H ₂ O	1,5	g
	MgCl ₂ · 6 H ₂ O	1,2	g
	CaCl ₂ · 2 H ₂ O	1,8	g

ad 1 000 ml Aqua dest.

Lsg. 2	FeCl ₃ · 6 H ₂ O	80,0	mg
	Na ₂ -EDTA · 2 H ₂ O	100,0	mg

ad 1 000 ml Aqua dest.

Lsg. 3	H ₃ BO ₃	185,0	mg
	MnCl ₂ · 4 H ₂ O	415,0	mg
	ZnCl ₂	3,0	mg
	Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	7,0	mg
	CoCl ₂ · 6 H ₂ O	1,5	mg
	CuCl ₂ · 2 H ₂ O	0,01	mg
(dazu 1 mg CuCl ₂ · 2 H ₂ O in 100 ml Aqua dest. lösen und von dieser Lösung 1 ml verwenden)			

ad 1 000 ml mit Aqua dest.

Lsg. 4	NaHCO ₃	50,0	mg
--------	--------------------	------	----

ad 1 000 ml Aqua dest.

Die Lösungen 1, 2 und 3 werden durch Autoklavieren (20 min bei 121 °C, 0,12 MPa = 1,2 bar) oder durch Sterilfiltrieren (Porengröße des Filters 0,2 µm) sterilisiert. Lösung 4 muß sterilfiltriert und darf nicht autoklaviert werden.

Ansetzen des OECD-Mediums für die Vorkultur und Testkultur:

Lösung 1:	10	ml
Lösung 2:	1	ml
Lösung 3:	1	ml
Lösung 4:	1	ml

ad 1 000 ml Aqua dest.

Der pH-Wert des Mediums liegt bei $8,0 \pm 0,2$. Das OECD-Medium wird mit Hilfe einer Agarzugabe von 0,6 g/l Agar in ein schwach gelartiges Medium verändert.

Teststoffkonzentrationen für den Gel- und Boden-Biotest

Als Testsubstanzen in diesen Biotests wurde Cadmiumchlorid als $\text{CdCl}_2 \cdot 2 \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ und Arelon (Wirkstoff: Isoproturon) verwendet. Die Angabe der Konzentrationen wurde auf Cadmium und Isoproturon umgerechnet.

Beim Ansetzen wurde berücksichtigt, daß die Cadmium- und Isoproturonkonzentrationen beim Boden-Biotest um das 10fache höher sein mußten, damit z. B. die erste Cadmiumkonzentration vom Gel-Biotest mit der ersten Cadmiumkonzentration im Boden-Biotest verglichen werden konnte (s. Tab. 8, S. 34). Schließlich wurden im Boden-Biotest nur 125 µl der Teststoffkonzentration auf 1 125 mg Substrat gegeben. Demgegenüber wurden im Gel-Biotest nur 250 µl Teststoffkonzentration in eine Kavität gegeben und nicht weiter verdünnt. Um einen Vergleich zwischen den Ergebnissen der beiden Biotests trotz unterschiedlicher Medienzusammensetzungen zu ermöglichen, wurde im Boden-Biotest davon ausgegangen, daß der Boden ebenso verdünnende Effekte aufweist wie ein Flüssigmedium. In anderer Form ist der Vergleich von Konzentrationen eines Teststoffes in Wasser und Boden kaum möglich.

Tab. 8: Teststoffkonzentrationen für Cadmium (Cd) und Isoproturon (IPU), die in beiden Biotests verwendet wurden

Cadmium in mg/l OECD-Medium				Isoproturon in mg/l OECD-Medium			
Gel-Biotest		Boden-Biotest		Gel-Biotest		Boden-Biotest	
K	0,0	K	0,0	K	0,0	K	0,0
Cd-1	0,01563			IPU-1	0,0195	IPU-1	0,195
Cd-2	0,03125	Cd-2	0,3125	IPU-2	0,0390		
Cd-3	0,0625			IPU-3	0,0781	IPU-3	0,781
Cd-4	0,125	Cd-4	1,25	IPU-4	0,1562		
Cd-5	0,25			IPU-5	0,3125	IPU-5	3,125
Cd-6	0,5	Cd-6	5,0	IPU-6	0,625		
Cd-7	1,0			IPU-7	1,25	IPU-7	12,5
Cd-8	2,0	Cd-8	20,0	IPU-8	2,5		
Cd-9	4,0			IPU-9	5,0	IPU-9	50,0
		Cd-10	80,0				

Die physikalisch-chemischen Parameter der beiden Teststoffe sind im Anhang (s. S. 124 bis 125) aufgeführt.

Methode des Gel- und Boden-Biotests

Im Gel- und Boden-Biotest werden das Wachstumsverhalten von sechs bzw. vier verschiedenen Algenarten über vier Tage bzw. am Ende der vier Tage gegenüber Teststoffen unter standardisierten Laborbedingungen in einem Flüssigmedium und einem naturnahen Boden beobachtet. In Vorversuchen zeigte sich, daß das Wachstum nach vier Tagen nur noch langsam ansteigt. Einen Eindruck davon geben die Wachstumskurven über die ersten vier Tage, die in Abb. 6 (s. S. 51) dargestellt sind.

Es können innerhalb eines Versuches die Wachstumsreaktionen der fünf bzw. drei Bodenalgarten untereinander und mit der Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus* verglichen werden. Einen tabellarischen Vergleich der Methoden beider Biotests zeigt Tab. 9.

Tab. 9: Methodischer Aufbau des Gel- und Boden-Biotests.

	Gel-Biotest	Boden-Biotest
Biotestorganismen	Bodenalgen: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Xanthonema tribonematoides</i> - <i>Stichococcus bacillaris</i> - <i>Klebsormidium flaccidum</i> - <i>Xanthonema montanum</i> - <i>Chlamydomonas noctigama</i> Süßwasseralge: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Scenedesmus subspicatus</i> 	Bodenalgen: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Xanthonema tribonematoides</i> - <i>Xanthonema montanum</i> - <i>Chlamydomonas noctigama</i> Süßwasseralge: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Scenedesmus subspicatus</i>
Reaktionsraum	<ul style="list-style-type: none"> - fünf 96-Kavitäten-Mikrotiterplatten - je Konzentration vier Kavitäten mit je 250 µl OECD-Medium 	<ul style="list-style-type: none"> - eine 48-Kavitäten-Mikrotiterplatte - je Konzentration eine Kavität mit 1 250 mg OECD-Bodenmedium-gemisch
Konzentrationszahl pro Teststoff	- neun und Kontrolle	- fünf und Kontrolle
Kulturbedingungen	- 22 °C, Dauerbelichtung 8 000 lx ($120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	
Prüfkriterium	- Hemmung des Algenwachstums	
Messung	- Photometrisch mit 800 nm Filter	- Zellzahlbestimmung über Zählkammervorgang mit Mikroskop
Wiederholungen/Parallelen	- 4 Parallelen in 4 Kavitäten pro Versuch für einen Teststoff	- 3 Wiederholungen des gesamten Versuches pro Teststoff
Auswertung	- Ermittlung des EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Wertes für 96 h	
Kontaminationspfad	- über die Wasserphase	<ul style="list-style-type: none"> - über die Gasphase - über die Wasserphase - über die Festphase Adsorptionseffekte im Boden werden nachempfunden

2.4.1 Versuchsdurchführung für den Gel-Biotest

A) Vorkultur

Die Vorkultur der sechs Algenarten wurde sieben Tage (sechs bis acht) vor Beginn des eigentlichen Versuches bei Dauerlicht (8 000 lx, bzw. $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, ca. 22 °C) auf OECD-Medium angesetzt. Die Algen wurden je Art auf zwei Petrischalen mit ca. 20 Strichen

angeimpft. Die Stammkulturen waren nicht älter als zwei bis drei Monate und wuchsen auf BBM-Medium.

B) Vorbereitung der Testmedien

Das OECD-Medium wurde in 100 ml Kolben mit je 100 ml Medium aufgeteilt. Danach wurden je Kolben 0,6 g/l Agar und anschließend die jeweiligen Schwermetallkonzentrationen dazugegeben und bei 121 °C und 0,12 MPa 20 min lang autoklaviert. Vor dem Autoklavieren wurden die Kolben im Dampftopf kurz erhitzt, damit sich die geringe Agarmenge gleichmäßig im Medium verteilt.

Da beim Pflanzenschutzmittel das Erhitzen eine Verflüchtigung oder Veränderung der Testsubstanz bewirken könnte, wurde die jeweiligen Arelonkonzentration erst nach dem Autoklavieren dem Medium zugegeben. Arelon ist in der handelsüblichen Konzentration steril, wie ein Test auf Peptonagar bestätigte.

Die zehn Kolben pro Teststoff mit den verschiedenen Teststoffkonzentrationen und der Kontrolle wurden als Vorratskolben für weitere Versuche im Kühlschrank aufbewahrt.

C) Versuchsdurchführung

Für die Durchführung des Gel-Biotests, in dem eine Testsubstanz mit sechs Algen bewertet wird, wurden folgende Arbeitsschritte unternommen:

1. Sechs Kolben mit jeweils 3 ml OECD Medium wurden mit den sechs Algenarten angeimpft (Animpfkolben). Die Trübung in den Kolben lag ungefähr bei einer Optischen Dichte (Absorption) von $1,0 \pm 0,2$ in 250 µl Zellsuspension (800 nm Filter). Um dies zu erreichen, mußten 2 Impfösen voll Algen in jeden Erlenmeyerkolben gegeben werden.
2. Pro Teststoff wurden 3 ml der neun verschiedenen Teststoffkonzentrationen und der Kontrolle aus den Stammlösungen in 54 100 ml Kolben für die sechs Algen pipettiert.
3. Pro Teststoffkonzentration wurden aus sechs Kolben jeweils 250 µl in sechs Kavitäten (Leerwerte) gegeben.
4. Aus den Animpfkolben wurden nach Homogenisierung der Zellsuspension jeweils 100 µl entnommen und in die 54 Kolben mit ihren jeweils noch ca. 2,75 ml der verschiedenen Teststoffkonzentrationen pipettiert.
5. Nach Homogenisierung der Zellsuspension mit den Teststoffkonzentrationen wurden aus den Kolben 250 µl in die Kavitäten gegeben. Je Konzentration und Algen sind vier Wiederholungen angesetzt worden (s. Abb. 1).
6. Alle Randkavitäten wurden mit sterilem Aqua dest. befüllt. Randeffekte (verstärkte Verdunstung) wurden dadurch verringert. Zusätzlich wurden die Mikrotiterplattendeckel mit Parafilm doppelt abgedichtet.

	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O
Alge 1	H ₂ O	LK	CdK	CdK	CdK	CdK	LCd1	Cd1	Cd1	Cd1	Cd1	H ₂ O
Alge 2	H ₂ O	LK	CdK	CdK	CdK	CdK	LCd1	Cd1	Cd1	Cd1	Cd1	H ₂ O
Alge 3	H ₂ O	LK	CdK	CdK	CdK	CdK	LCd1	Cd1	Cd1	Cd1	Cd1	H ₂ O
Alge 4	H ₂ O	LK	CdK	CdK	CdK	CdK	LCd1	Cd1	Cd1	Cd1	Cd1	H ₂ O
Alge 5	H ₂ O	LK	CdK	CdK	CdK	CdK	LCd1	Cd1	Cd1	Cd1	Cd1	H ₂ O
Alge 6	H ₂ O	LK	CdK	CdK	CdK	CdK	LCd1	Cd1	Cd1	Cd1	Cd1	H ₂ O
	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O

	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O
Alge 1	H ₂ O	LCd8	Cd8	Cd8	Cd8	Cd8	LCd9	Cd9	Cd9	Cd9	Cd9	H ₂ O
Alge 2	H ₂ O	LCd8	Cd8	Cd8	Cd8	Cd8	LCd9	Cd9	Cd9	Cd9	Cd9	H ₂ O
Alge 3	H ₂ O	LCd8	Cd8	Cd8	Cd8	Cd8	LCd9	Cd9	Cd9	Cd9	Cd9	H ₂ O
Alge 4	H ₂ O	LCd8	Cd8	Cd8	Cd8	Cd8	LCd9	Cd9	Cd9	Cd9	Cd9	H ₂ O
Alge 5	H ₂ O	LCd8	Cd8	Cd8	Cd8	Cd8	LCd9	Cd9	Cd9	Cd9	Cd9	H ₂ O
Alge 6	H ₂ O	LCd8	Cd8	Cd8	Cd8	Cd8	LCd9	Cd9	Cd9	Cd9	Cd9	H ₂ O
	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O

Abb. 1: Befüllungsschema der Mikrotiterplatten. Exemplarisch sind die erste und fünfte Mikrotiterplatte dargestellt. LK (Leerwert Kontrolle, Medium ohne Zellen und ohne Cadmium); LCd1 (Leerwert, Medium ohne Zelle mit Cadmiumkonzentration 1); CdK (Kontrolle); Cd1 (erste Cadmiumkonzentration mit Zellen); H₂O (steriles Aqua dest.).

- Die Messungen der optischen Dichte mit einem 800 nm Filter wurden alle 24 Stunden über vier Tage durchgeführt. Die erste Messung fand ca. zwei Stunden nach dem Befüllen der Mikrotiterplatte statt. Der 800 nm Filter wurde für die Messung der Optischen Dichte ausgewählt, da dieser Filter Partikel bzw. Zellen in einer Lösung am besten mißt und durch Farbstoffeinwirkungen nur geringfügig beeinflusst wird.
- Die Mikrotiterplatten wurden bei $22,0 \pm 3,0$ °C und ca. 8 000 lx, bzw. $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ Dauerlicht kultiviert.
- Nach DIN 28 692 wurden zu Beginn und am Ende des Versuches die pH-Werte der Medien mit den verschiedenen Teststoffkonzentrationen überprüft, um pH-Wert-Veränderungen über die Versuchszeit oder schon bei der Zugabe eines Teststoffes verfolgen zu können. Veränderungen von ca. 1,5 hätten dokumentiert werden müssen und sollten bei deutlicher Überschreitung dieses Wertes zum Abbruch des Versuches führen. Die pH-Wert-Messung führt man mit dem entsprechenden Indikatorpapier (pH-Bereich 7,5-8,5) oder mit pH-Meßgeräten mit einer Mikroelektrode durch.

D) Auswertung

Für die Auswertung wurden die Meßdaten nach jeder Messung mit Hilfe einer Input/Output-Routine direkt in einen PC übertragen und dort mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel verrechnet. Die vier Parallelen für jede Konzentration wurden zu einem Mittelwert zusammengefaßt und der Mittelwert der sechs Leerwerte für jede Konzentration abgezogen. Der resultierende Wert beschrieb das Algenwachstum. Zur Darstellung der Wachstumskurven wurden für jede Konzentration und die Kontrollen die vier Mittelwerte der fünf Messungen (vier Meßtage) gegenüber der Zeit (0 h bis 96 h) aufgetragen (s. Tab. 6, S. 51).

Die weitere Auswertung wird in Anlehnung an den „Wachstumshemmtest mit der Alge *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum*“ (DIN 28 692) durchgeführt. Sie basiert darauf, daß die mit dem Mikrotiterplattenphotometer gemessenen Werte der Optischen Dichte auf Zellzahl/ml umgerechnet werden können. Als Grundlage dazu mußten für alle Algenarten Eichversuche durchgeführt werden, in denen die Optischen Dichten Zelldichten der entsprechenden Art zugeordnet wurden (s. Tab. A10 bis A15, S. 126 bis 128). Zwischen der Zunahme der Zelldichte und der Erhöhung des Wertes der Optischen Dichte gibt es innerhalb der ersten 96 h einen linearen Zusammenhang.

Für die Berechnung des Konzentrations-Wirkungs-Verhältnisses wurde ein Verfahren eingesetzt, in dem zuerst die durchschnittlichen spezifischen Wachstumsraten (μ) berechnet wurden. Die durchschnittliche spezifische Wachstumsrate für Kulturen mit einem exponentiellen Wachstum wurde ermittelt als:

$$\mu = \ln N_n - \ln N_0 / t_n - t_0$$

t_0 = Zeitpunkt zu Prüfbeginn

N_n = gemessene Optische Dichte (Anzahl der Zellen/ml) zum Zeitpunkt t_n

N_0 = Optische Dichte (Anzahl der Zellen/ml) zum Zeitpunkt t_0

t_n = Zeitpunkt der n. Messung nach Prüfbeginn

Anschließend wurde die prozentuale Verminderung der durchschnittlichen spezifischen Wachstumsrate bei den einzelnen Konzentrationen gegenüber dem Kontrollwert gegen den Logarithmus der Konzentration aufgetragen. Der EC_{10} - und EC_{50} -Wert lassen sich jeweils aus der daraus entstehenden Kurve ableiten. Dies wurde mit einem SAS Programm zur Probitanalyse vorgenommen.

2.4.2 Versuchsdurchführung für den Boden-Biotest

A) Vorkultur

Wie beim Gel-Biotest (s. Kap. 2.4.1, S. 35).

B) Vorbereitung der Testmedien

Wie beim Gel-Biotest (s. Kap. 2.4.1).

Der BBA-Boden wurde vor Vermischung mit dem OECD-Flüssigmedium durch ein 2 mm Sieb gegeben und bei 105 °C (DIN 19 683 Teil 4) getrocknet.

Auch bei diesem Biotest wurde mit einem Agarzusatz gearbeitet, um das Durchsickern der Algen durch kleine Spalten im Boden zu verhindern. Zusätzlich wurde damit auch eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit dem Gel-Biotest möglich.

Je Testsubstanz wurden fünf Konzentrationsstufen und die Kontrolle angesetzt. Aufgrund der aufwendigeren mikroskopischen Auswertung des Boden-Biotests wurden nicht alle neun Konzentrationen wie beim Gel-Biotest getestet.

C) Versuchsdurchführung

Für die Durchführung des Boden-Biotests, in dem eine Testsubstanz mit vier Algen bewertet wird, wurden folgende Arbeitsschritte durchgeführt:

1. Die äußeren Kavitäten der Mikrotiterplatte wurden mit je 1 ml sterilem Aqua dest. befüllt und in die verbleibenden 24 Kavitäten wurden je 1,0 g getrockneter BBA-Boden gegeben.
2. Es wurden 125 µl der vorbereiteten Teststoffkonzentrationen pro Kavität auf die Erde gegeben und mit einer sterilen Impfnadel mit dem Boden gut durchmischt (s. Abb. 2). Anschließend wurde die Erde mit dem stumpfen sterilen Ende einer Impfnadel gleichmäßig festgedrückt, so daß die Oberfläche eine glatte Ebene ergab. Es wurde darauf geachtet, daß keine Risse oder Löcher auf der Bodenoberfläche vorhanden waren, da durch diese die Algensuspension hätte nach unten in die Kavität fließen können. Diese Arbeiten wurden unter der Clean Bench durchgeführt.

	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O
Alge 1	H ₂ O	K1	Cd1/1	Cd2/1	Cd3/1	Cd4/1	Cd5/1	H ₂ O
Alge 2	H ₂ O	K2	Cd1/2	Cd2/2	Cd3/2	Cd4/2	Cd5/2	H ₂ O
Alge 3	H ₂ O	K3	Cd1/3	Cd2/3	Cd3/3	Cd4/3	Cd5/3	H ₂ O
Alge 4	H ₂ O	K4	Cd1/4	Cd2/4	Cd3/4	Cd4/4	Cd5/4	H ₂ O
	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O

Abb. 2: Befüllungsschema der Mikrotiterplatte für den Boden-Biotest. K 1 bis 4 (Kontrolle); Cd 1/1 (Cadmiumkonzentration 1 mit Alge 1), H₂O (steriles Aqua dest.).

3. Von den Agarplatten (Vorkultur) wurden je Alge 3 Impfösen voll Algenmaterial abgenommen und in jeweils 3 ml OECD-Medium resuspendiert. In der Animpflösung wurde eine Optische Dichte in 250 µl von $1,5 \pm 0,2$ (800 nm Filter) erreicht.
4. Aus den Animpfkolben wurden 125 µl der jeweiligen Algensuspension vorsichtig auf die Oberfläche der glattgedrückten Erde gegeben, ohne diese dabei aufzuwirbeln.
5. Anschließend wurde der sterile Deckel aufgelegt und mit Parafilm einmal abgedichtet. Damit wurden Verdunstungseffekte am Rande der Mikrotiterplatten verringert.

6. Die Mikrotiterplatten wurden bei $22,0 \pm 3,0$ °C und ca. 8 000 lx, bzw. $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ Dauerlicht kultiviert.
7. Der gesamte Versuch wurde dreimal wiederholt, da es innerhalb des Versuches keine Wiederholungen gab.

D) Auswertung

1. Nach 96 h wurde mit einem dünnen sterilen Spatel die Erde vorsichtig aus jeder Kavität gehoben und jeweils in einen Erlenmeyerkolben gegeben. Anschließend wurde mit 2 ml OECD-Medium die Kavität nachgespült und damit die Resterde in den Erlenmeyerkolben pipettiert. Diese wurden jeweils bis auf 7 ml OECD-Medium aufgefüllt.
2. Die Erde wurde mit den 7 ml OECD-Medium 2 Stunden bei 15 U/min im Überkopfschüttler geschüttelt.
3. Anschließend wurde mit Hilfe eines seitlich angelegten Alupapiers durch einen Goldfilter filtriert, mit 4,25 ml OECD-Medium nachgespült und das Filtrat erneut durch den Goldfilter gegeben.
4. Mit einem Magnetrührer wurden dann die Algen-Boden-Suspensionen jeweils in einem kleinen Becher durchmischt und immer an der gleichen Stelle aus dem Wirbel mit einer 100 µl Pipette ca. 20 µl entnommen und auf eine Neubauer Zählkammer gegeben. Mit deren Hilfe wurde die Algenkonzentration in der Bodensuspension bestimmt. Bei der Berechnung auf Zellzahl pro ml wurde der Verdünnungsfaktor durch die Herstellung einer Bodensuspension berücksichtigt, der meistens den Faktor 10 hatte.
5. In der Neubauer Zählkammer wurde ein Quadrat mit 16 Kleinquadraten ausgezählt, wobei je vier Kleinquadrate als ein Zählwert definiert wurden. Dieser Vorgang wurde viermal mit immer neu entnommenen ca. 20 µl Bodensuspension durchgeführt.
6. Die Berechnung des EC_{10} - und EC_{50} -Wertes verlief analog zur Auswertung des Gel-Biotests (s. Kap. 2.4.1, S. 38).
7. Die pH-Wert-Überprüfung fand wie im Gel-Biotest statt.

Beim Boden-Biotest ist es erst am Ende der vier Tage möglich, eine Bestimmung der Algendichte im Substrat vorzunehmen. Die Zellzahlzählung eines Teils des Bodens in den Kavitäten alle 24 h würde zu stark in den Biotest eingreifen und das Wachstum der Algen beeinflussen. Aus diesem Grund konnten keine Wachstumskurven über alle vier Tage erstellt werden.

Darstellung der Ergebnisse für den Gel- und Boden-Biotest

- Tabellarische Darstellung der Zelldichte bzw. Optischen Dichte (Mittelwert) für jede Konzentration und Messung mit Standardabweichung.
- Wachstumskurven für die Kontrollen jeder Algenart im Gel-Biotest.
- Tabellarische Darstellung der EC_{10} - und EC_{50} -Werte mit Angabe der Konfidenzintervalle.

3 ERGEBNISSE

3.1 Isolierte Bodenalg

In dieser Arbeit wurden Algen aus unbelasteten und belasteten Böden isoliert.

Tab. 10: Algen, die in die Stammsammlung aufgenommen werden konnten

Isolierungscode	Isolierungsort	Klasse	Gattung, Art
Ge 2	Gemüsebeet, BBA	Ulvophyceae	<i>Trebouxia</i> cf. <i>aggregata</i>
Ge 3	„	Chlorophyceae	<i>Oocystis</i> cf. <i>minuta</i>
Ge 4	„	Chlorophyceae	<i>Oocystis</i> cf. <i>minuta</i>
Ge 7,1	„	Xanthophyceae	cf. <i>Pleurochloris</i>
Ge 7,2	„	Xanthophyceae	cf. <i>Pleurochloris</i>
Ge 10	„	Chlamydomphyceae	<i>Chlamydomonas</i> spec.
K 0	„	Chlamydomphyceae	<i>Cystomonas</i> spec.
K 3	Erdbeerbeet BBA	Xanthophyceae	<i>Xanthonema tribonematoides</i>
MEA 7	„	Chlamydomphyceae	<i>Chlamydomonas noctigama</i>
K ½	Schwermetallv. BBA	Chlorophyceae	<i>Chlorella minutissima</i>
V1L2	„	Xanthophyceae	<i>Xanthonema solidum</i>
V1L9	„	Charophyceae	<i>Stichococcus bacillaris</i>
Hidd 1	Hiddensee, Steilküste	Chlorophyceae	<i>Chlorella vulgaris</i>
Hidd 4	„	Chlorophyceae	<i>Chlorella luteoviridis</i>
Hidd 5	„	Chlorophyceae	<i>Chlorella vulgaris</i>
Hidd 10	„	Chlamydomphyceae	<i>Chlorococcum</i> spec.
Hidd 11	„	Charophyceae	<i>Stichococcus bacillaris</i>
Hidd 13	„	Chlamydomphyceae	<i>Chlamydomonas</i> spec.
Hidd 14	„	Chlorophyceae	<i>Oocystis</i> cf. <i>asymmetrica</i>
Hidd 15	„	Chlamydomphyceae	<i>Chlorococcum</i> spec.
Vilm 1,1	Insel Vilm, Wald	Charophyceae	<i>Stichococcus bacillaris</i>
Vilm 1,2	„	Chlorophyceae	<i>Coccomyxa</i> spec.
Vilm 2,2	„	Charophyceae	<i>Stichococcus minutus</i>
Vilm 3,1	„	Chlorophyceae	<i>Chlorella minutissima</i>
Vilm 3,4	„	Charophyceae	<i>Stichococcus minutus</i>
Vilm 3,5	„	Chlorophyceae	<i>Coccomyxa</i> spec.
Darß 1,23	Darßer Ort	Chlorophyceae	<i>Coccomyxa</i> cf. <i>confluens</i>
Darß 2,20	„	Chlamydomphyceae	<i>Chlamydomonas</i> spec.
Darß 4,1	„	Xanthophyceae	<i>Xanthonema</i> spec.
Darß 4,3	„	Charophyceae	<i>Stichococcus bacillaris</i>
Darß 6/1/2	„	Charophyceae	<i>Klebsormidium flaccidum</i>
Darß 6/1/8	„	Charophyceae	<i>Xanthonema montanum</i>
Darß 6/1/9	„	Charophyceae	<i>Stichococcus bacillaris</i>
Darß 6/1/11	„	Chlorophyceae	<i>Coccomyxa</i> spec.
Darß 6/1/12	„	Xanthophyceae	<i>Xanthonema solidum</i>

Diese wurden bestimmt und in eine Stammsammlung aufgenommen. Die Zuordnung der Algen zu den Klassen (Tab. 10, S. 41) wurde nach Ettl & Gärtner (1995) durchgeführt. Nicht alle Algen konnten bis zur unialgalen Kultur, die bakterienfrei ist, aufgearbeitet werden. Manche Algen – insbesondere Kieselalgen – gingen nach dem zweiten oder dritten Überimpfen auf neue BBM-Agarplatten ein. Insgesamt wurden aus den verschiedenen Isolierungsversuchen 98 Algen isoliert. Davon wurden 35 zu Reinkulturen aufgearbeitet, und 18 Bodenalgen konnten bis zur Art bestimmt werden. Bei fünf Algen war die Bestimmung der Art unsicher. Von den isolierten Algen wurden fünf als Biotestorganismen ausgewählt (s. Tab. 11, S. 47).

3.1.1 Algenabundanzen in den schwermetallhaltigen Böden

In Abb. 3 a) und b) (s. S. 43) sind die Ergebnisse des Schwermetallversuches von 1995 mit den Algenabundanzen für die Bodentiefe von 0 cm bis 1 cm und 0 cm bis 5 cm in Abhängigkeit von der Schwermetallbelastung der Parzellen aufgeführt. Es sind die Mittelwerte aus je zwei analysierten Parzellen (s. Tab. 4, S. 27) pro Konzentrationsstufe angegeben. Diese betrugen für die erste Cadmiumkonzentrationsstufe (Cd I) 43,1 mg/kg TS Boden, für die zweite (Cd II) 175,0 mg/kg TS Boden, für die erste Bleikonzentrationsstufe (Pb I) 928,0 mg/kg TS Boden und für die zweite (Pb II) 3 609,5 mg/kg TS Boden.

In den mit Cadmium belasteten Böden war die Gesamtalgenpopulation am höchsten und in den mit Blei belasteten Böden am niedrigsten (s. Fototafel 3, Bild 1 bis 3, S. 45). Die statistischen Untersuchungen zum Schwermetallversuch von 1995 ergaben folgende Resultate:

Diejenige für 1995 mittels Varianzanalyse (Signifikanzniveau 5 %) zeigte, daß die koloniebildenden Einheiten der Gesamtalgenpopulation (Abb. 3 a und 3 b) sich in den unterschiedlichen schwermetallhaltigen Böden signifikant voneinander unterschieden. Mittels Dunett-Test (Signifikanzniveau 5 %) wurde berechnet, daß die Böden Cd I zur Kontrolle, Cd II zur Kontrolle und Pb II zur Kontrolle eine signifikant niedrigere Algendichte aufwiesen. Diese Aussagen trafen sowohl für die Tiefe von 0 cm bis 1 cm sowie auch für 0 cm bis 5 cm zu. Im Schwermetallversuch 1996 (Bodentiefe: 0 cm bis 5 cm) wurden ähnliche Ergebnisse erzielt. In Abb. 4 (s. S. 44) ist eine deutliche Hemmung der Gesamtalgenzahl in den mit Blei belasteten Böden zu erkennen. Allerdings war die höhere Gesamtalgenzahl bei den mit Cadmium belasteten Böden nicht so ausgeprägt, wie dies 1995 der Fall war. Die statistische Auswertung mittels Dunett-Test (Signifikanzniveau 5 %) zeigte, daß für Pb II wieder eine signifikant geringere Algendichte gegenüber der Kontrolle vorlag. Für Pb I, Cd I und Cd II konnte auf dem Niveau von 5 % kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle ermittelt werden. Die statistische Auswertung für die Abundanzen der Cyanobakterien und Kieselalgen wurde weder für 1995 noch 1996 durchgeführt. Die Zahl der koloniebildenden Einheiten war zu gering und die Standardabweichung zu hoch (s. Tab. A5 und A6, S. 118 bis 120).

Der Vergleich im Schwermetallversuch von 1995 in Abb. 3 a) und b) machte die quantitative Algenverteilung in den oberen 5 cm des Bodens deutlich. Es ist die Abnahme der Algenabundanzen für alle Gruppen in den Bodenproben aus 0 cm bis 5 cm (a) gegenüber 0 cm bis 1 cm (b) zu erkennen.

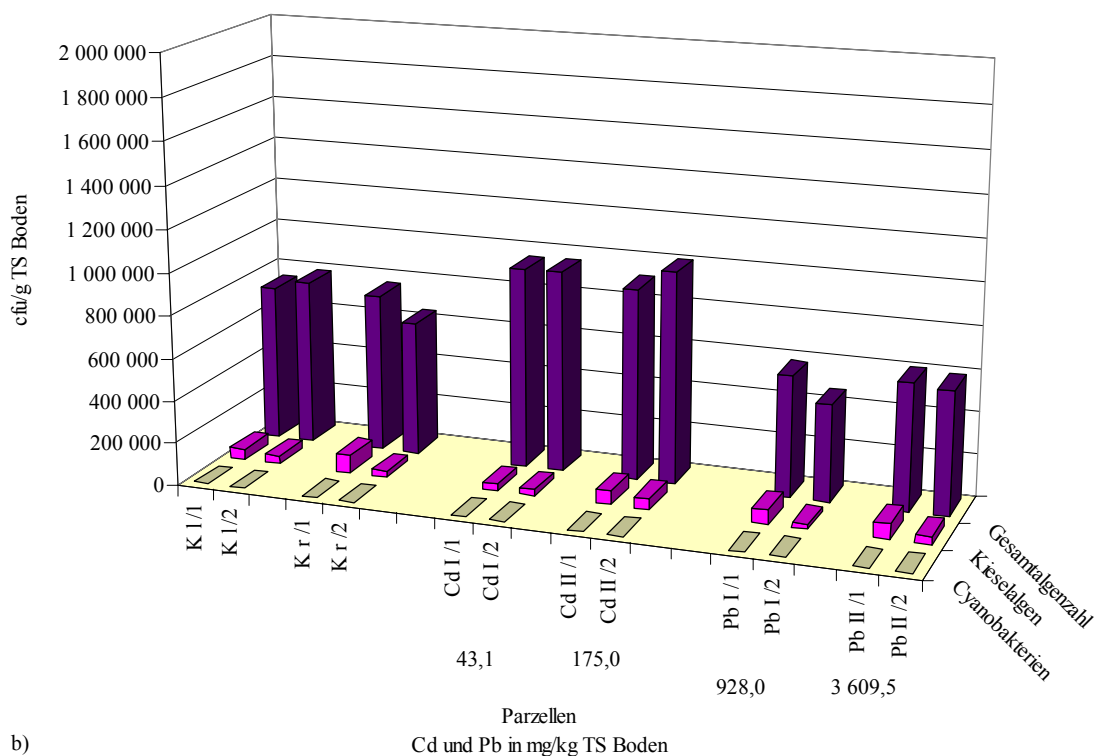
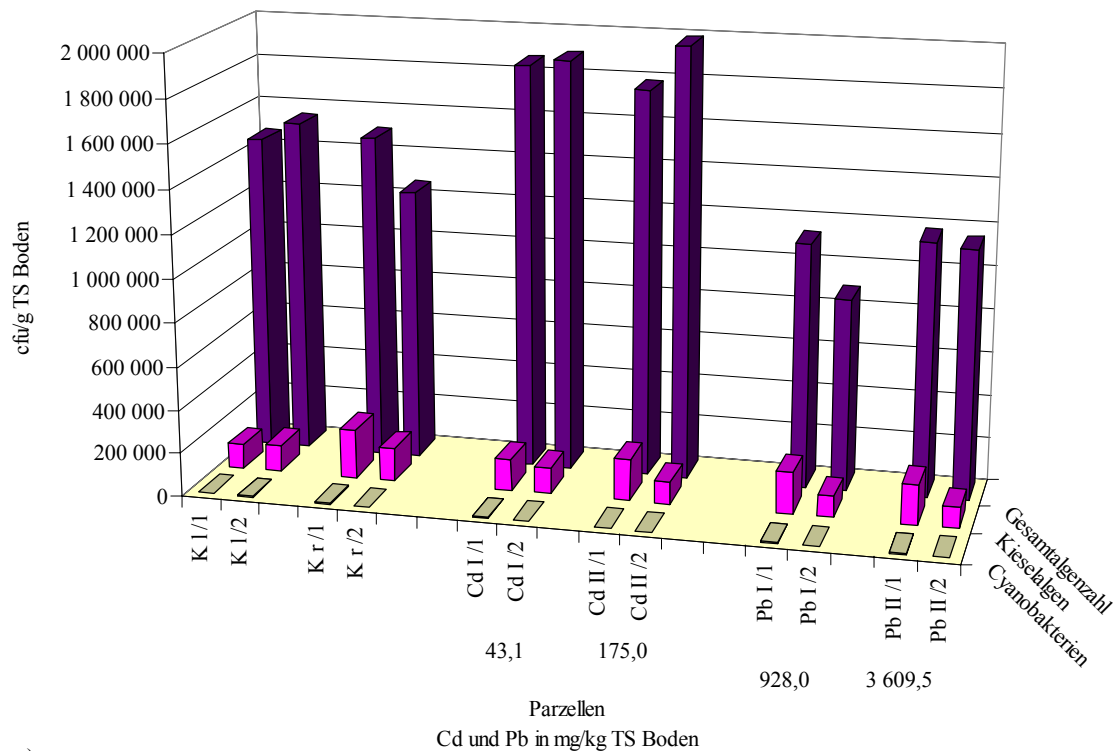


Abb. 3 a) und b): Algenabundanzen des Schwermetallversuches von 1995 mit vier Kontrollparzellen und je zwei Parzellen pro Konzentrationsstufe und Schwermetall (gemessene Cadmium- und Bleigesamtgehalte), Bodentiefen a) 0 cm bis 1 cm und b) 0 cm bis 5 cm, Gesamtalgenzahl (alle eukaryontischen Algen). Die Kieselalgen sind in der Gesamtalgenzahl enthalten und zusätzlich separat dargestellt. K I und K r (Kontrollparzellen im linken bzw. rechten Bereich des Versuchsfeldes).

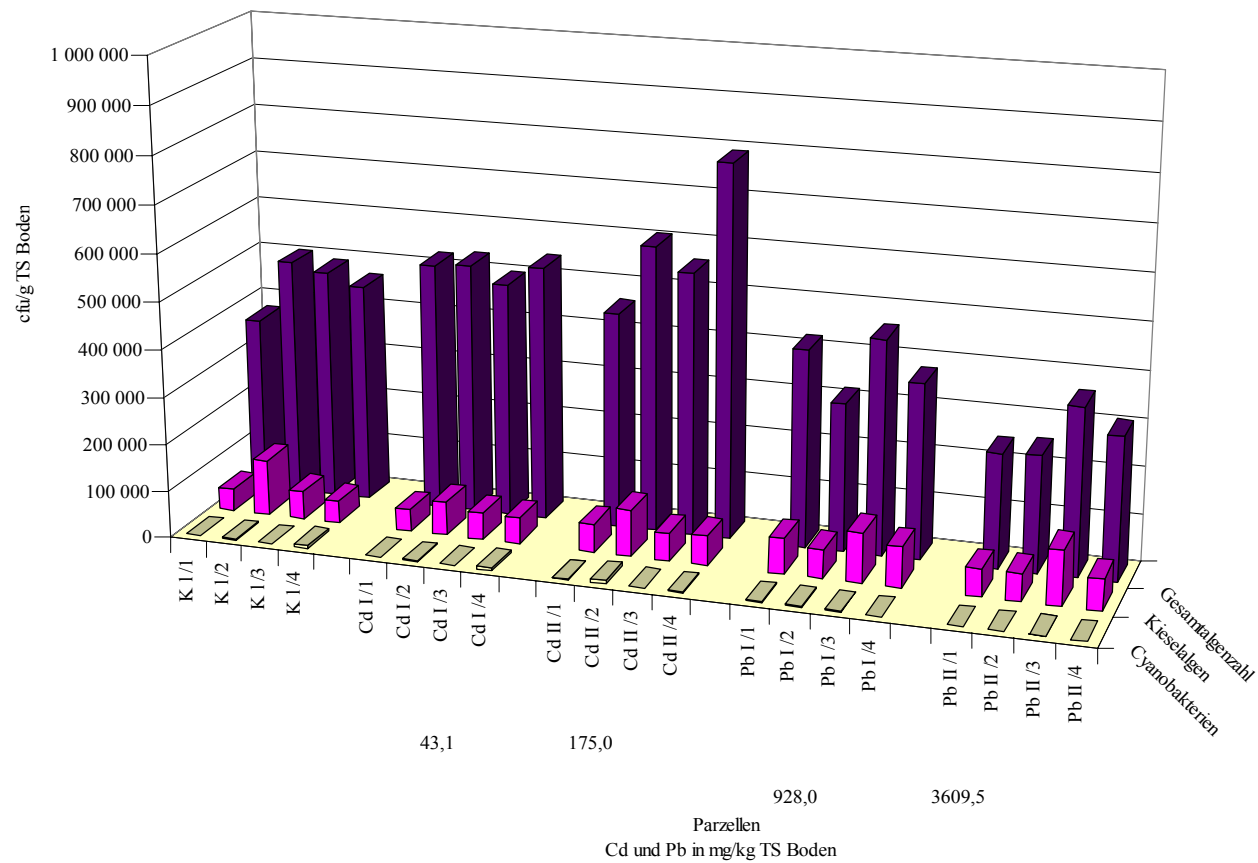


Abb. 4: Algenabundanzen des Schwermetallversuches von 1996 mit vier Kontrollparzellen und je vier Parzellen pro Konzentrationsstufe und Schwermetall (Cadmium und Blei); beprobte Bodentiefe: 0 cm bis 5 cm, Gesamtalgenzahl (alle eukaryontischen Algen).

Fototafel 3

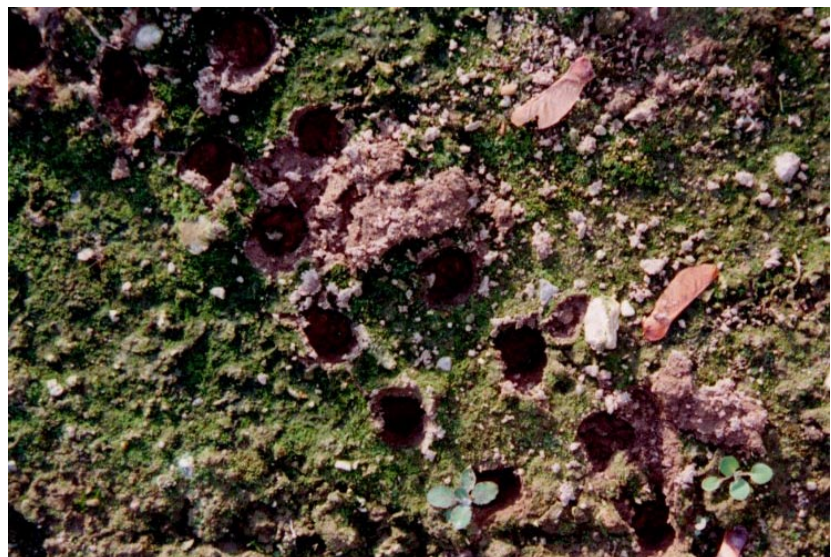
Bild 1: Versuchsparzellen, die hoch mit Blei belastet waren.



Bild 2: Einstiche des Bodenstechers in einer hoch mit Blei belasteten Parzelle. Es war kein grünlicher Biofilm auf dem Boden zu erkennen.



Bild 3: Einstiche des Bodenstechers in einer hoch mit Cadmium belasteten Parzelle. Es war ein grünlicher Biofilm erkennbar.



3.1.2 Algenabundanzen in Böden vom Darßer Ort

Beim Probenahmestandort D 5 konnten keine Kieselalgen und nur in einem Fall eine geringe Zahl an Cyanobakterien isoliert werden (s. Abb. 5 und Tab. A9, S. 123). Beim Probenahmestandort D 6 wurde eine geringe Anzahl an Kieselalgen in zwei Proben festgestellt und eine höhere Anzahl an Cyanobakterien. Die Abundanzen der Gesamtalgen wiesen in beiden Böden Schwankungen um das ca. 10fache auf.

Es wurden mehrere Algen isoliert und Reinkulturen angelegt. Drei der fünf Bodenalgen (s. Tab. 11, S. 47), die für die Biotests genutzt wurden, stammten von den unbelasteten Böden des Darßer Ortes.

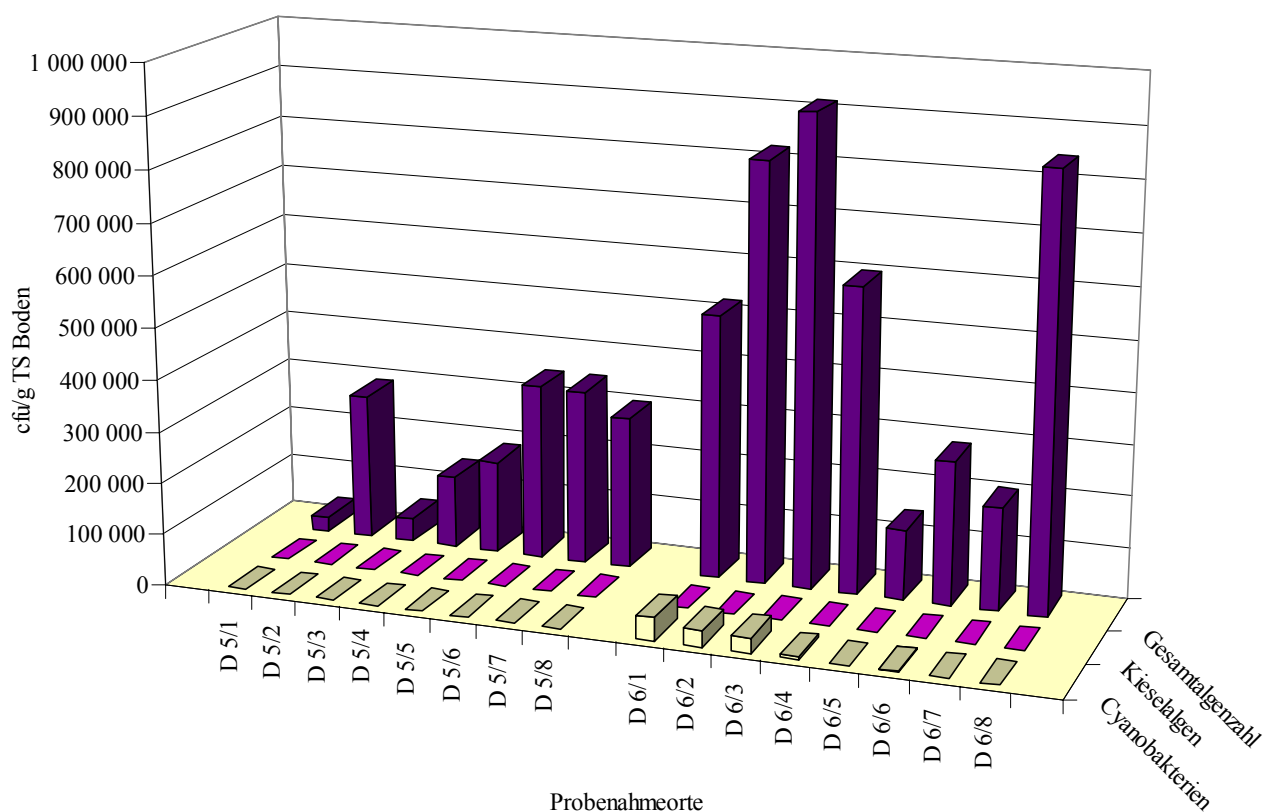


Abb. 5: Algenabundanzen von zwei Probenahmeorten (D 5 und D 6) vom Darßer Ort. Es wurden je 8 Einzelproben im Abstand von 20 cm genommen. Beprobte Bodentiefe: 0 cm bis 5 cm, Gesamtalgenzahl (alle eukaryontischen Algen). Kieselalgen zusätzlich separat dargestellt.

3.2 Biotestsystem

3.2.1 Auswahl der Biotestorganismen für die Biotests

Aus der durch die Isolierungsversuche entstandenen Stammsammlung wurden Algen ausgewählt (s. Tab. 11), die aus unbelasteten Böden vom Darßer Ort und der BBA stammten.

Tab. 11: Algen, die als Biotestorganismen im Gel-Biotest und Boden-Biotest eingesetzt wurden.
Grau unterlegt: Biotestalgen (s. Fototafel 4, S. 48 bis 49) des Boden-Biotests und des Gel-Biotests;
weiß unterlegt: Biotestalgen, die nur im Gel-Biotest eingesetzt wurden.

Algenart/Isolierungs- code und -ort	Abteilung/Klasse	Zellmorphologie	Vermehrung	Vorkommen
<i>Xanthonema tribonematoides</i> (Pascher) Silva 1979 K3 (Erdbeerbeet, BBA)	Chrysophyta Xanthophyceae	Großzellige (Breite 12-15 µm, Länge 18-30 µm), kurzfädige Alge	Zoosporen, Dauerstadien in Form von Zysten oder Hypnoblasten	auf feuchten Böden
<i>Klebsormidium flaccidum</i> (Kützing) Silvia, Mattox & Blackwell 1972 Darß 6/1/2 (Darßer Ort)	Chlorophyta Charophyceae	Zelle mittlerer Größe (Breite 5- 8 µm, Länge 15- 24 µm), bildet beständige Fäden	Fortpflanzung durch Zoosporen (wenige), Aplanosporen, Hypnoblasten und Fadenzerfall	Böden, weit verbreitet
<i>Stichococcus bacillaris</i> Nägeli 1849 Darß 4,3 (Darßer Ort)	Chlorophyta Charophyceae	sehr kleine Alge (Breite 2-2,5 µm, Länge 3,5-6,6, selten 12 µm), bildet ver- schleimende Kurzfasern	vegetative Teilung und Fragmentierung der Zellfasern	weit ver- breitete, sehr häufige Alge in Böden, auf Gestein, Rinden etc.
<i>Xanthonema montanum</i> (Vischer) Silva 1979 Darß 6/1/8 (Darßer Ort)	Chrysophyta Xanthophyceae	Zelle mittlerer Größe (Breite 5 µm, Länge 7- 10 µm), bildet kurze leicht zer- fallende Fäden	Zoosporen oder Aplanosporen (unbewegliche Sporen)	Böden, weit verbreitet
<i>Chlamydomonas noctigama</i> Korschikoff in Pascher 1927 MEA 7 (Erdbeerbeet)	Chlorophyta Chlamydomonadeae	größere Zelle (Breite 5-20 µm, Länge 8-22 µm), einzellig	intensive Zoo- sporenbildung, Hypnoblasten	Böden
<i>Scenedesmus subspicatus</i> Chodat 1926 ScSu (SAG 86 81)	Chlorophyta Chlorophyceae	Zelle mittlerer Größe (Breite 3-5 µm, Länge 5- 8 µm), bildet 2- 4zellige Zönobien	Autosporen- bildung	Süßwasseralge des DIN 28692, bisher nicht aus Böden isoliert, weit verbreitete Süßwasseralge

Fototafel 4

Bild 1: *Xanthonema tribonematoides*, Vergrößerung 630fach, Differential-Interferenzkontrast

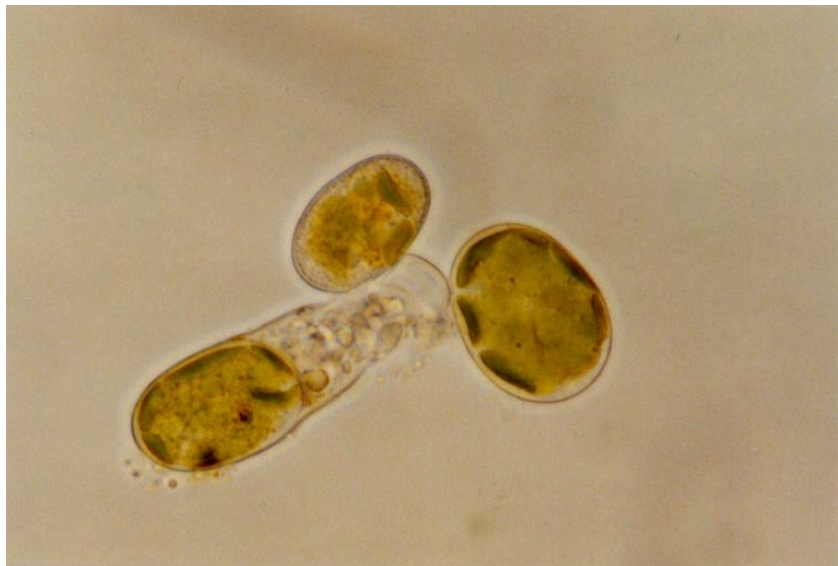


Bild 2: *Klebsormidium flaccidum*, Vergrößerung 630fach, Differential-Interferenzkontrast



Bild 3: *Stichococcus bacillaris*, Vergrößerung 1 000fach, Phasenkontrast

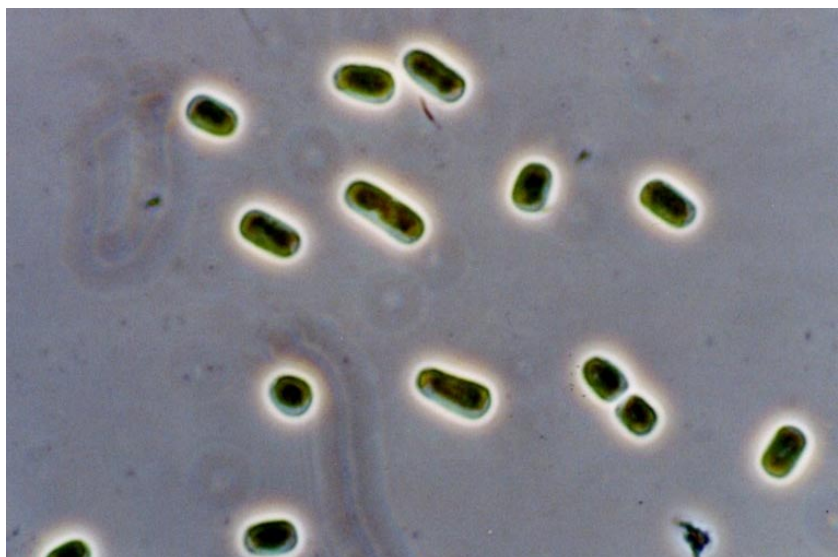


Bild 4: *Xanthonema montanum*, Vergrößerung 630fach, Differential-Interferenzkontrast



Bild 5: *Chlamydomonas noctigama*, Vergrößerung 630fach, Differential-Interferenzkontrast

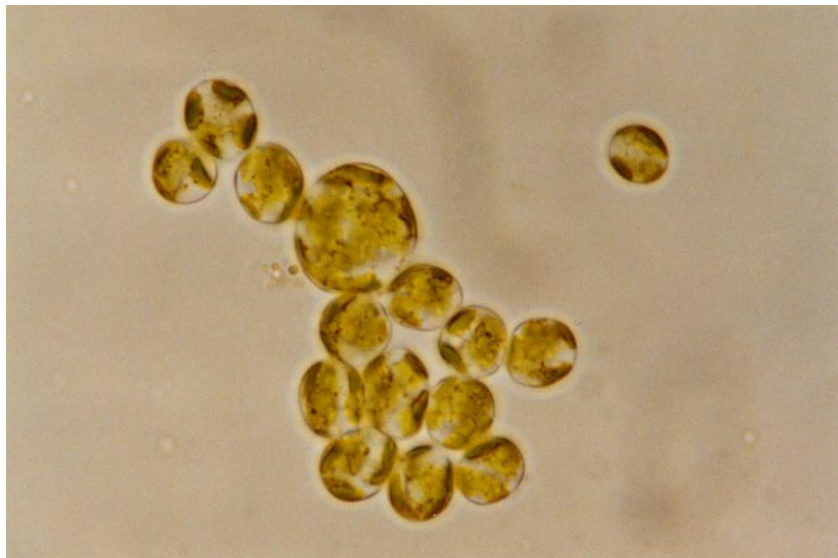
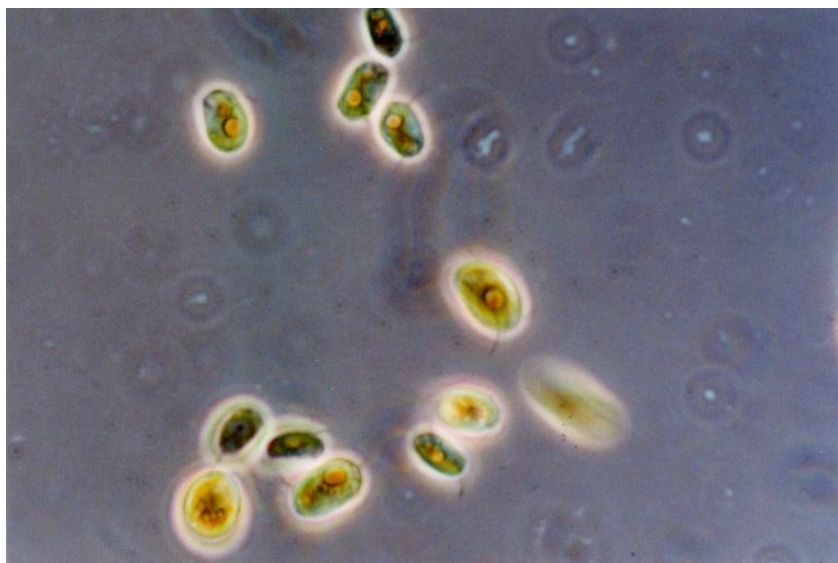


Bild 6: *Scenedesmus subspicatus*, Vergrößerung 1 000fach, Phasenkontrast



Auswahlkriterien für die fünf Arten waren:

- möglichst unterschiedliche Gattungs- und Klassenzugehörigkeit
- Unterschiede in Zellgröße, Wachstumsgeschwindigkeit, Vermehrungsart
- Möglichkeit der Kultivierung der Algenart ohne bakterielle Kontaminationen
- photometrisch meßbares Wachstum innerhalb weniger Tage.

Die grau unterlegten Algen wurden sowohl im Gel-Biotest als auch im Boden-Biotest eingesetzt. Die weiß unterlegten Algen wurden nur im Gel-Biotest benutzt. Diese beiden Arten waren aufgrund ihrer Zellgröße nicht für die Zellzahlzählung in einer Boden-Suspension mit dem Mikroskop geeignet. Im Falle der Gattung *Xanthonema* wurden zwei Arten in die Biotestsysteme integriert, da sich diese Arten besonders in ihrer Zellgröße unterschieden. *Xanthonema tribonematoides* gehörte zu einer der wenigen großzelligen Bodenalgenarten.

Die Alge *Scenedesmus subspicatus* wird im OECD 201 Biotest eingesetzt. Sie wurde in beide Biotestsysteme integriert, um ihre Wachstumsreaktion mit den Reaktionen der Bodenalgen in dem entwickelten Biotestsystem auf verschiedene Testsubstanzen vergleichen zu können.

3.2.2 Wuchsverhalten der ausgewählten Biotestorganismen

Abb. 6 zeigt die Wachstumskurven der fünf Bodenalgen und von *Scenedesmus subspicatus* innerhalb von 96 h. Die Daten und die dazugehörigen Standardabweichungen sind in Tab. A16 (s. S. 129) aufgeführt. Der Variationskoeffizient der Wiederholungen innerhalb eines Versuches betrug bei fast allen Algen maximal 5 % bis 10 %. Die Optische Dichte wurde mit einem 800 nm Filter gemessen.

Um das Mikrotiterplattenphotometer zur Bestimmung des Zellwachstums einsetzen zu können, mußte für alle Algen geprüft werden, ob eine annähernd lineare Beziehung zwischen den gemessenen OD-Werten und der Zelldichte in der Zellsuspension innerhalb der ersten 96 h bestand. Dies war bei allen Algen der Fall (s. Tab. A10 bis A15, S. 126 bis 128). Es kam bei den ausgewählten Algen innerhalb der 96 h zu keiner stärkeren Aggregation der Zellen oder Bildung einer Kahmhaut, die die photometrische Messung verhindert hätten.

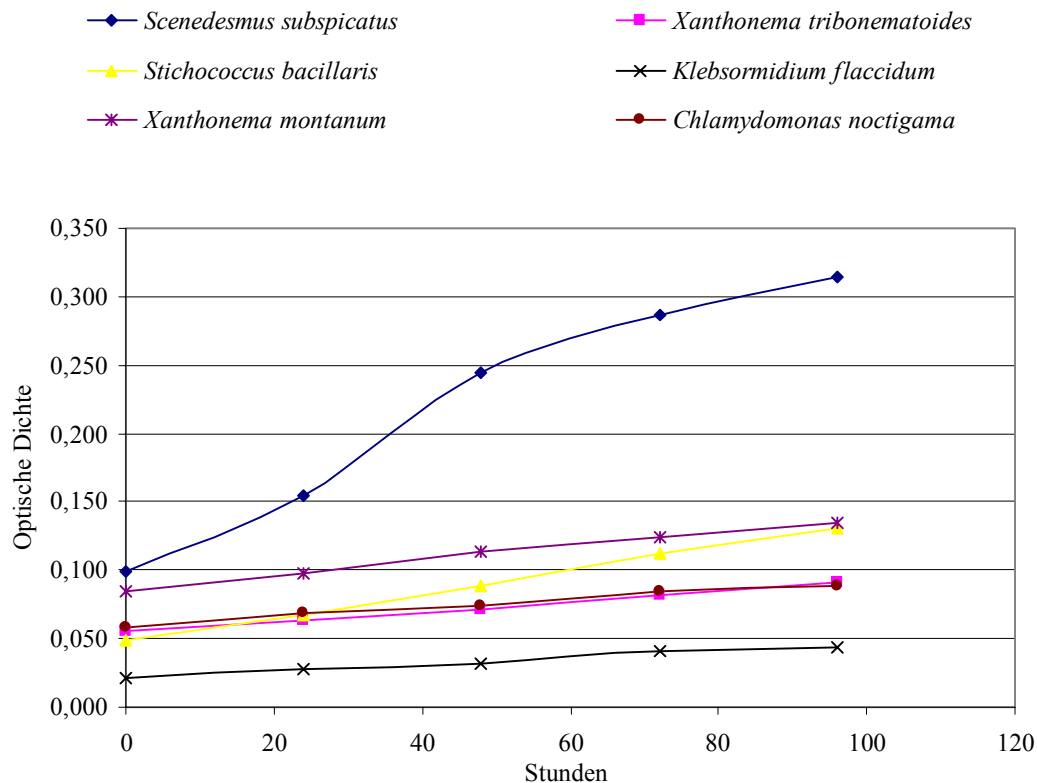


Abb. 6: Wachstumskurven der verwendeten Biotestalgen innerhalb der ersten 96 h

3.2.3 Gel-Biotest

Standardisierung des Gel-Biotests

Der Biotest wurde soweit standardisiert, daß bei vier zeitlich getrennt durchgeführten Wiederholungsversuchen, die ebenfalls auf jeweils vier Parallelen pro Konzentration basierten, der Variationskoeffizient der vier Wiederholungsversuche bei allen Algen um 20 % und in wenigen Ausnahmen bei 30 % lag. Dagegen war der Variationskoeffizient der vier Parallelen innerhalb eines Versuches geringer und lag durchschnittlich bei 5 % bis 10 % (s. Tab. A17.1 bis A17.25, S. 130 bis 137).

Beispielhaft sind in Abb. 7 das prozentuale Wachstum der Testalgen bei verschiedenen Cadmiumkonzentrationen und die Standardabweichung von vier zeitlich versetzten Wiederholungsversuchen dargestellt. Bei einigen Algen ist ein Hormesis-Effekt erkennbar.

Mit Hormesis-Effekt (s. Kap. 4.2.2, S. 61) bezeichnet man das Phänomen, daß Organismen bei geringen Konzentrationen eines toxischen Stoffes eine Wachstumsstimulation aufweisen (Paterson & Wright 1987).

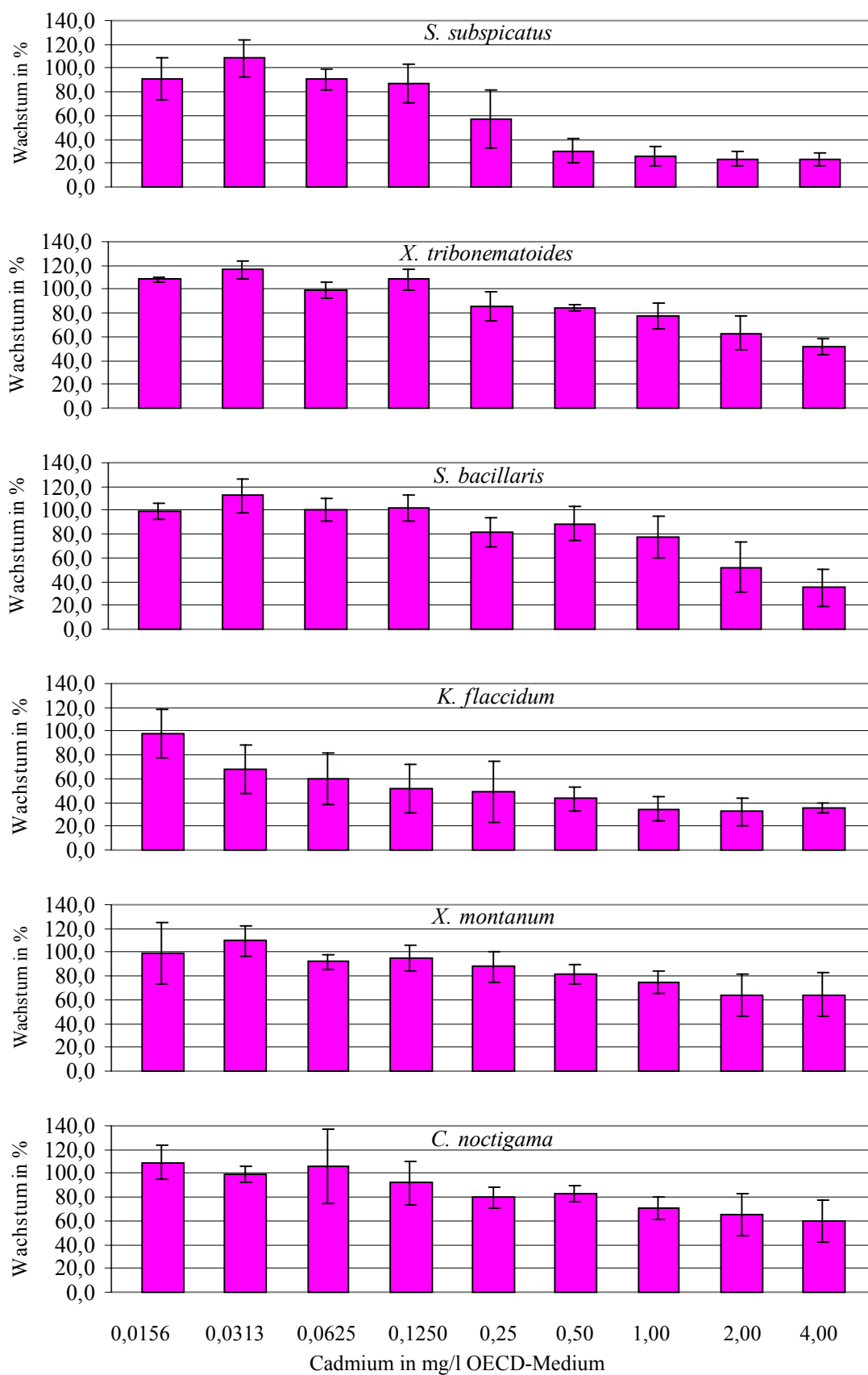


Abb. 7: Algenwachstum der Testalgen in Prozent gegenüber der Kontrolle (Kontrolle = 100 %, nicht dargestellt) im Gel-Biotest nach 96 h mit Standardabweichung **bei unterschiedlichen Cadmiumkonzentrationen.**

Ergebnisse für Cadmium und Isoproturon

Im Gel-Biotest reagierten die Algenarten in ihrem Wachstum unterschiedlich auf Cadmium und Isoproturon (Tab. 12).

Tab. 12: EC₁₀-, EC₅₀-Werte (96 h) und 95 %-Konfidenzintervalle (KI) des Gel-Biotests für Cadmium aus vier Wiederholungsversuchen und Isoproturon aus einem Versuch mit vier Wiederholungen in mg/l OECD-Medium, nominal

Gattung, Art	Cadmium EC ₁₀ und KI		Cadmium EC ₅₀ und KI		Isoproturon EC ₁₀ und KI		Isoproturon EC ₅₀ und KI	
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	0,03	0,02 0,05	0,44	0,36 0,53	0,07	0,05 0,08	0,42	0,34 0,54
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	0,25	0,15 0,36	4,30	3,00 7,25	0,03	0,02 0,05	0,35	0,27 0,47
<i>Stichococcus bacillaris</i>	0,23	0,14 0,33	2,49	1,94 3,45	0,27	0,18 0,36	2,74	2,01 4,24
<i>Klebsormidium flaccidum</i>	0,003	0,001 0,006	0,33	0,24 0,46	0,02	0,01 0,03	0,84	0,57 1,47
<i>Xanthonema montanum</i>	0,13	0,11 0,26	8,06	4,69 17,97	0,10	0,08 0,12	0,49	0,42 0,59
<i>Chlamydomonas noctigama</i>	0,15	0,08 0,23	5,97	3,67 12,41	0,06	0,04 0,07	0,25	0,21 0,29

Beim Cadmium war *Klebsormidium flaccidum* am empfindlichsten und am unempfindlichsten *Xanthonema tribonematoides* bzw. beim EC₅₀ *Xanthonema montanum*. Der Unterschied zwischen den Algen betrug beim EC₁₀-Wert ca. Faktor 80 und beim EC₅₀-Wert ca. Faktor 25.

Beim Isoproturon lagen alle Algen in ihrer Empfindlichkeit, sowohl beim EC₁₀- als auch beim EC₅₀-Wert, relativ dicht beieinander. Die einzige Ausnahme stellte *Stichococcus bacillaris* dar, die um das 4-6fache unempfindlicher gegenüber Isoproturon war.

Gemessene pH-Wert-Abweichungen der verschiedenen OECD-Medienkonzentrationen mit Cadmiumchlorid und Isoproturon lagen weder zu Beginn noch am Ende des Biotests über 1,5.

3.2.4 Boden-Biotest

Standardisierung des Boden-Biotests

Der Boden-Biotest wurde soweit standardisiert, daß bei drei zeitlich getrennt durchgeführten Wiederholungsversuchen der Variationskoeffizient der mittleren Meßwerte bei allen Algen bis auf wenige Ausnahmen 5 % bis 15 % betrug. Aufgrund der Großzelligkeit von *Xanthonema tribonematoides* und der damit geringeren Zellzahl gegenüber den kleinzelligen Algen im Boden-Biotest waren die Abweichungen bei dieser Alge am größten (s. Abb. 8, S. 54). Bei *Xanthonema montanum* ist der Hormesis-Effekt erkennbar.

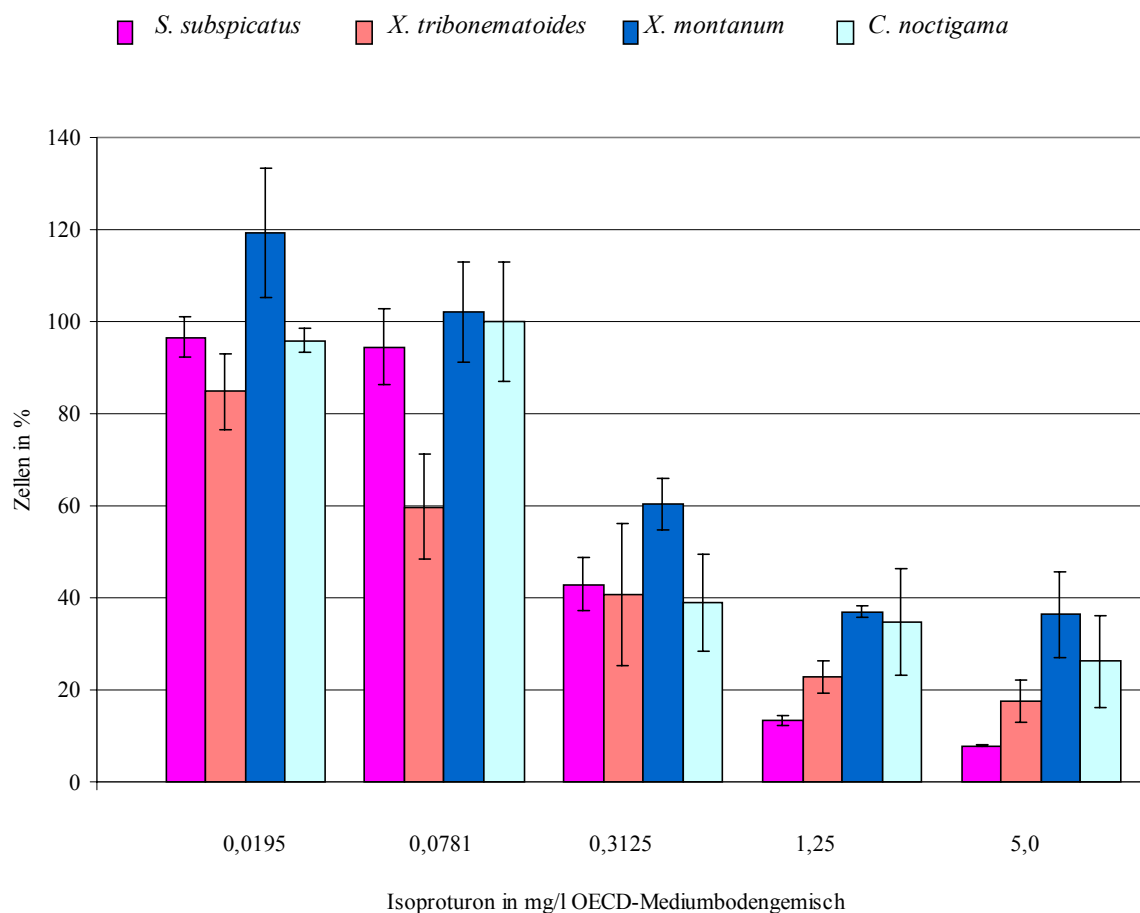


Abb. 8: Algenwachstum in Prozent gegenüber der Kontrolle (Kontrolle = 100 %, nicht dargestellt) im Boden-Biotest mit Standardabweichung nach 96 h **bei unterschiedlichen Isoproturonkonzentrationen.**

Ergebnisse für Cadmium und Isoproturon

Für Cadmium konnte bis zu einer Konzentration von 8,0 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch bei keiner Alge eine Hemmung des Wachstums festgestellt werden. Deshalb konnte kein EC_{10} - oder EC_{50} -Wert berechnet werden. Aus diesem Grund sind in Tab. 13 (s. S. 55) nur die EC_{10} - und EC_{50} -Werte für Isoproturon dargestellt.

Für Isoproturon lagen für alle Algen, außer für *Xanthonema tribonematoides*, die EC_{10} -Werte um 0,04 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch und die EC_{50} -Werte zwischen 0,35 und 0,92 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch. *Xanthonema tribonematoides* hatte den niedrigsten EC_{10} - und EC_{50} -Wert.

Tab. 13: EC₁₀- und EC₅₀-Werte (96 h) und 95 %-Konfidenzintervalle (KI) des Boden-Biotests für Isoproturon in mg/kg OECD-Mediumbodengemisch, nominal.

Gattung, Art	Isoproturon		Isoproturon	
	EC ₁₀ und KI		EC ₅₀ und KI	
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	0,055	0,038 0,074	0,35	0,28 0,43
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	0,005	0,002 0,011	0,21	0,14 0,29
<i>Xanthonema montanum</i>	0,034	0,013 0,066	0,92	0,65 1,32
<i>Chlamydomonas noctigama</i>	0,016	0,006 0,032	0,46	0,32 0,66

Gemessene pH-Wert-Abweichungen der OECD-Medienbodengemische mit unterschiedlichen Cadmiumchlorid- und Isoproturonkonzentrationen lagen weder zu Beginn noch am Ende der Biotests über 1,5.

Vergleich zwischen Gel- und Boden-Biotest

In Tab. 14 sind die Ergebnisse der EC₅₀-Werte der beiden Biotests des Biotestsystems dargestellt. Für Cadmium konnte im Boden-Biotest kein EC₅₀-Wert ermittelt werden, da bei einer Cadmiumkonzentration von 8,0 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch keine Hemmung festgestellt werden konnte.

Tab. 14: EC₅₀-Werte des Gel- und Boden-Biotests für Cadmium und Isoproturon in mg/l OECD-Medium beim Gel-Biotest und in mg/kg OECD-Mediumbodengemisch beim Boden-Biotest; n. g. (nicht getestet).

Gattung, Art	Gel-Biotest Cadmium	Gel-Biotest Isoproturon	Boden-Biotest Isoproturon
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	0,44	0,42	0,35
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	4,30	0,35	0,21
<i>Stichococcus bacillaris</i>	2,49	2,74	n. g.
<i>Klebsormidium flaccidum</i>	0,33	0,84	n. g.
<i>Xanthonema montanum</i>	8,06	0,49	0,92
<i>Chlamydomonas noctigama</i>	5,97	0,25	0,46

4 DISKUSSION

4.1 Isolierung von Bodenalg

Die in dieser Untersuchung durchgeführte Version der Agarplattenmethode wurde von Stellmacher (1993) entwickelt und zeichnete sich dadurch aus, daß die Erdsuspension durch einen Goldfilter (Kaffeedauerfilter) gegeben wurde. Hierdurch konnte erreicht werden, daß durch die schmale Passage durch die Schlitze (Schlitzgröße: 2 900 µm x 100 µm) eine verstärkte Loslösung der Algen von den Erdpartikeln stattfand. Je höher der Bestandteil an grobkörnigen Partikeln oder organischem Material war, desto größer war die Gefahr, daß Algen in dem im Filter verbleibenden Material hängenblieben. Durch Nachspülen des im Filter verbleibenden Materials konnte ein Großteil der Algen noch ausgewaschen werden. Ein seitlich außen am Filter angelegter Aluminiumfolienstreifen erhöhte durch den engen Kontakt zur Filterwand die Durchflußgeschwindigkeit der Suspension mit den Algen. Die Bestimmung der Algendichte fand statt, indem die gefilterte Bodensuspension auf Agarplatten ausgestrichen und die Koloniezahl ermittelt oder die Bodensuspension in eine Zählkammer gegeben und mittels Mikroskop die Zelldichte bestimmt wurde.

Die Untersuchungen zeigten, daß trotz behutsamen Ausplattierens der Bodensuspension eine Zerstörung von größeren Bodenalgencellen oder Zoosporenmutterzellen nicht ausgeschlossen werden konnte. Insbesondere die Freisetzung von Zoosporen kann aber zu einem ungewollten Einfluß auf die Anzahl von koloniebildenden Einheiten führen. Aus diesem Grund wurde im Laufe der Arbeit der bei der Agarplattenmethode standardmäßig genutzte Arbeitsschritt der Ausplattierung der Bodensuspension mittels Drigalskispatel aufgegeben. Statt dessen wurde die aufgebrachte Menge der Bodenlösung auf 1 000 µl erhöht. Sie wurde durch Schwenken auf der Petrischale verteilt und anschließend unter der Clean Bench ca. 20 min leicht getrocknet (Neuhaus et al. 1997), um einen optimalen Feuchtigkeitszustand des Agars für ein gutes Koloniewachstum zu erhalten. In vorliegender Arbeit fand nach ca. drei Wochen Kultivierung keine Veränderung der Koloniezahl mehr statt, so daß diese mit Hilfe einer Stereolupe festgestellt werden konnte. Zu diesem Zeitpunkt waren kleine Kolonien mit einer Stereolupe gut zu erkennen, aber es bildeten sich auch noch keine Tochterkolonien, die die Koloniezahl der aus den Böden stammenden Algen und Algenaggregate hätten unnatürlich erhöhen können.

Wie die Ergebnisse (s. Tab. 10, S. 41) zeigen, konnten mit dieser Methode verschiedene Arten von Bodenalg

isoliert werden. Die Standardabweichung für die ermittelten Gesamtalgencichten in jeweils vier Bodenparzellen (s. Tab. A4 und A6, S. 116 und 120) mit nahezu gleichen Bodenparameterwerten (s. Tab. A1, A2 und A3, S. 113 bis 115) war so gering, daß signifikante Unterschiede in der mittleren Algendichte in unbelasteten und belasteten (Blei und Cadmium) Böden ermittelt werden konnten.

In dieser Arbeit war es nicht möglich, alle Algen bei einer Koloniezahl von ca. 150 bis 1 500 pro Petrischale in weitere Gruppen oder Gattungen zu differenzieren. Nur Kieselalgen

konnten aufgrund ihrer bräunlichen Koloniefärbung ohne aufwendige mikroskopische Untersuchung als Gruppe erkannt und extra gezählt werden. Die Koloniezahlen konnten auf der anderen Seite auch nicht verringert werden, da sich im Schwermetallversuch 1995 und 1996 (s. Tab. A4 und A6, S. 116 und 120) zeigte, daß die Anzahl der Cyanobakterien und Kieselalgen mit 0 bis 50 koloniebildenden Einheiten zu gering war und die Standardabweichung zu hoch, um Aussagen über ihre Abundanzen in Abhängigkeit von der Bodenbelastung machen zu können.

Die Vorteile der Agarplattentechnik sind, daß sowohl Aussagen über die Abundanzen von Algen in Böden gewonnen werden können, als auch Algenmaterial zur weiteren Isolierung und Gewinnung von Reinkulturen. Nur mit Hilfe von unialgalen Kulturen einzelner Arten ist es möglich, eine genaue Bestimmung der jeweiligen Art durchzuführen.

Der Nachteil liegt darin, daß eine Auswertung des Isolierungsversuches erst nach drei bis vier Wochen möglich ist. Des weiteren kann bei diesem Verfahren nie eine genaue Aussage über die real im Boden vorkommende Organismenanzahl getroffen werden (Mückenhausen 1974), denn es treten zwei Problembereiche auf:

- Die Annahme, daß jede Kolonie aus einer Zelle entsteht, muß nicht unbedingt zutreffen. Gerade bei fadenbildenden oder aggregatebildenden Organismen können mehrere zusammenhängende Zellen eine Kolonie bilden.
- Jedes Nährmedium hat einen selektiven Charakter, so auch das BBM-Medium bei Bodenalgen (Ettl & Gärtner 1995).

In dieser Arbeit bewährte sich das BBM-Medium (Bischoff 1963) sowohl zur Isolierung von Algen aus Böden als auch zur Stammhaltung.

Das Problem der real im Boden vorkommenden Organismen gegenüber den isolierten Organismen gibt es bei allen Bodenmikroorganismengruppen. Aufgrund der Bodenstruktur ist es fast immer notwendig, Bodenlösungen und Verdünnungen herzustellen, die dann auf verschiedene Medien aufgebracht werden. Man zählt dann die gebildeten Bakterien-, Pilz- und Algenkolonien und rechnet entsprechend der Verdünnungen die Abundanzen für die jeweilige Organismengruppe aus. Für die Bodenbakterien gibt es Untersuchungen, in denen von den mittels Fluoreszenzmikroskopie gezählten Bakterien in Böden nur 0,1 % bis 0,5 % auf verschiedenen Kulturmedien isoliert werden konnten (Torsvik et al. 1990). Auch für die Bodenalgen ist die Bestimmung der Gesamtalgenabundanz über eine einfache auflichtfluoreszenzmikroskopische Technik möglich, mit welcher die Algen als rötlich leuchtende Zellen sichtbar gemacht und direkt in der Bodenlösung gezählt werden können (Oesterreicher 1988). Mit Hilfe dieses Verfahrens ist erkennbar, inwieweit die Koloniezahlen auf dem Agar die Algendichte im Boden wiedergeben. Für Bodenalgen stellte Oesterreicher (1988) mit Böden aus Skipisten oberhalb der Waldgrenze in einem Methodenvergleich der auflichtfluoreszenzmikroskopischen Technik und der Agarplattenmethode fest, daß ca. 90 % der durch Direktzählung mit Auflichtfluoreszenz gezählten Algen mit Hilfe des BBM-Mediums isoliert werden konnten. Allerdings arbeitete Oesterreicher bei der Auswertung der kultivierten Agarplattenkulturen ebenfalls mit einem Auflichtfluoreszenzmikroskop, um auch

sehr kleine Algenkolonien zu erfassen. In Arbeiten über die Erfassung der Abundanz von Bodenalggen (Neuhaus et al. 1997), wie auch in der vorliegenden, wurde die Auszählung mit einer Stereolupe ohne Auflichtfluoreszenz durchgeführt, und Musset (1994) zählte die Kolonien ohne Vergrößerungshilfsmittel. Aus diesen Gründen wäre es denkbar, daß ein geringerer Anteil an sehr kleinen Kolonien in diesen Arbeiten nicht mitgezählt wurde.

Zur Direktzählung mittels Auflichtfluoreszenzmikroskopie ist anzumerken, daß auch hier die gezählte Zellzahl nicht unbedingt mit der real im Boden vorkommenden Algenzahl gleichgesetzt werden kann. Gerade bei Dauerstadien (z. B. Hypnoblasten, Hypnosporen und Hypnozygoten) von Algen kann der Chlorophyllgehalt stark reduziert sein, so daß dieser auch mit Hilfe der Auflichtfluoreszenzmikroskopie nicht mehr erfaßt wird. Damit können auch die mit dieser Methode gewonnenen Daten nicht mit der real im Boden vorkommenden Algenpopulation gleichgesetzt werden. Des weiteren ist diese Methode auch nur für die Bestimmung von Zelldichten geeignet und nicht von Arten, denn eine Isolierung einzelner Algen vom Objektträger zur Gewinnung von Reinkulturen und deren Bestimmung ist kaum möglich.

Letztlich können die mit Hilfe der Agarplattenmethode ermittelten Algendichten nicht die real im Boden existierende Algendichte abbilden. Meistens wird diese höher sein. Wie Untersuchungen von Oesterreicher (1988) und Stellmacher (1993) zeigten, kann davon ausgegangen werden, daß mit Hilfe der Agarplattenmethode bei einer Mehrzahl der Böden mindestens 60 % der vorkommenden Algen isoliert werden.

Die in der Mikrobiologie weit verbreitete Methode des Verdünnungsausstriches auf einer Agarplatte bewährte sich auch für Bodenalggen. Allerdings mußte sehr frühzeitig Algenmaterial aus winzigen Kolonien abgenommen und auf frische Agarplatten gesetzt werden, bevor diese von Pilzen oder Bakterienkolonien überwachsen wurden. In einigen Fällen mußte dieser Arbeitsschritt mehrmals durchgeführt werden, und es dauerte mehrere Monate, bis eine Klonkultur ohne Verunreinigung durch Bakterien und Pilze erreicht war. Erst dann konnte die mikroskopische Bestimmung der Kultur durchgeführt werden.

Das Hauptziel der Isolierungsversuche war es, unialgale Kulturen von verschiedenen Bodenalggenarten zu erhalten, für die Informationen darüber vorliegen, ob die Böden, in denen sie vorkamen, unbelastet waren oder ob sie z. B. Schwermetallbelastungen aufwiesen. Alternativ hätten Algen aus verschiedenen Stammsammlungen eingesetzt werden können. Allerdings waren in den verschiedenen Stammsammlungen nur kurze Angaben über die Isolierungsorte und keine Informationen über die Belastungssituationen angegeben. Aus diesem Grund wurden im Laufe dieser Arbeit aus einem belasteten Standort und fünf unbelasteten Standorten (Schwermetallversuchsfläche, Darßer Ort, Erdbeerbeet- und Gemüsebeetfläche BBA Berlin, Insel Vilm, Insel Hiddensee) Algen isoliert, die in Tab. 10 (s. S. 41) aufgeführt sind. Bei den aus unbelasteten Böden isolierten Bodenalggen konnte mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, daß sie keine Resistenzen oder Toleranzen gegenüber Schwermetallen und anderen Schadstoffen entwickelten. Damit waren diese Algen als Organismen für die hier beschriebenen Biotests besonders geeignet.

4.2 Algen in schwermetallhaltigen Böden

4.2.1 Bodenparameter

1995 wurden die Schwermetallgehalte nur für jeweils 2 Parzellen erfaßt (s. Tab. 2, S. 26) und 1996 alle vier Parzellen einer Belastungsstufe auf ihre Algenabundanzen hin untersucht. Es kann aber für die jeweils zwei nicht bodenanalytisch untersuchten Parzellen einer Belastungsstufe davon ausgegangen werden, daß sie ungefähr die gleichen Schwermetallgehalte aufweisen, da bei der Anlage der Versuchsfläche alle Parzellen einer Schwermetallbelastungsstufe mit den jeweils gleichen Konzentrationen eines Schwermetalls belastet wurden.

Die gemessenen Belastungen der Schwermetallversuchsparzellen mit Blei lagen mit ca. 930 mg/kg TS Boden und 3 600 mg/kg TS Boden um ein 9- bis 35faches und mit Cadmium bei 40 mg/kg TS Boden und 170 mg/kg TS Boden um ein 30- bis 110faches über den Grenzwerten der Klärschlammverordnung für Böden. Diese Grenzwerte der Klärschlammverordnung (1997) für die Aufbringung von Klärschlämmen besagen, daß ab einem Bleiwert von 100,0 mg/kg TS Boden und einem Cadmiumwert von 1,5 mg/kg TS Boden (bzw. 1,0 mg/kg TS Boden bei leichten Böden mit pH-Wert von 5-6) in den landwirtschaftlich oder gärtnerisch genutzten Böden Klärschlämme nicht mehr ausgebracht werden dürfen.

Seit dem 24. März 1998 ist das Bundes-Bodenschutzgesetz (1998) und seit dem 16. Juli 1999 auch die Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (1999) in Kraft getreten, die im Anhang 2 Maßnahmen-, Prüf- und Vorsorgewerte enthält. Nach § 8 des Bundes-Bodenschutzgesetzes besagt der Vorsorgewert, daß bei dessen Überschreitung unter Berücksichtigung von geogenen oder großflächig siedlungsbedingten Schadstoffgehalten in der Regel davon auszugehen ist, daß die Besorgnis einer schädlichen Bodenveränderung besteht. Bei Überschreitung des Prüfwertes muß eine einzelfallbezogene Prüfung durchgeführt werden, um festzustellen, ob eine schädliche Bodenveränderung oder Altlast vorliegt. Wird der Maßnahmenwert überschritten, muß unter Berücksichtigung der jeweiligen Bodennutzung von einer schädlichen Bodenveränderung ausgegangen, und es müssen entsprechende Maßnahmen ergriffen werden.

Vergleicht man die Bleibelastungen von ca. 930 mg/kg TS Boden und 3 600 mg/kg TS Boden mit dem Prüfwert für Blei, der 5 mg/kg TS Boden beträgt, so sind die gemessenen Belastungen um den Faktor 180 bis 720 höher. Die Belastung mit Cadmium von 40 mg/kg TS Boden und 170 mg/kg TS Boden beträgt sogar ein 400- bis 1 700faches des Maßnahmenwertes für Cadmium, der bei 0,1 mg/kg TS Boden bzw. 0,04 mg/kg TS Boden bei Brotweizenanbau oder stark Cadmium anreichernden Gemüsearten liegt. Diese Werte gelten für den Schadstoffübergang Boden – Nutzpflanze für Ackerbauflächen und in Nutzgärten im Hinblick auf die Pflanzenqualität. Für den Schadstoffübergang Boden – Nutzpflanze auf Grünlandflächen im Hinblick auf die Pflanzenqualität gibt es einen Maßnahmenwert, der für Cadmium 20 mg/kg TS Boden und für Blei 1 200 mg/kg TS Boden beträgt. Die Vorsorgewerte für Cadmium sind für die Bodenart Ton 1,5 mg/kg TS Boden, für die Bodenart

Lehm/Schluff 1,0 mg/kg TS Boden und für die Bodenart Sand 0,4 mg/kg TS Boden. In derselben Reihenfolge sind die Werte für Blei 100, 70 und 40 mg/kg TS Boden.

Die Kontrollböden der Schwermetallversuchsanlage wiesen in den oberen 5 cm ebenfalls einen erhöhten Cadmiumgehalt auf. Er lag mit ca. 6 mg/kg TS Boden um das ca. 4fache über dem Grenzwert, der für Böden, auf denen Klärschlämme aufgebracht werden dürfen, festgelegt ist, und über das 60fache über dem Maßnahmenwert der Bodenschutz- und Altlastenverordnung für den Schadstoffübergang Boden – Nutzpflanze auf Ackerbauflächen und in Nutzgärten.

Die Bleikonzentrationen für einen unbelasteten Boden liegen bei durchschnittlich 2,0 bis 300,0 mg/kg TS Boden und für Cadmium bei 0,06 bis 1,00 mg/kg TS Boden (Koch 1995). Eigene Untersuchungen (Burhenne 1994, Burhenne et al. 1997) zeigen, daß auf Rieselfeldböden im Süden vor Berlin Belastungen mit Blei von 100 bis 1 300 mg/kg TS Boden und mit Cadmium von 10 bis 30 mg/kg TS Boden vorkommen.

Mittels Calciumchloridextraktion erhält man einen Überblick, welche Konzentrationen an Schadstoffen und Nährstoffen für die Bodenorganismen verfügbar sein könnten (Köster & Merkel 1982, Hornburg & Brümmer 1989, Merkel 1996). Damit werden saure Bereiche im Boden im unmittelbaren Umfeld von Wurzeln (Marschner 1986, Gisi et al. 1990) oder Exoenzyme von Mikroorganismen nachgeahmt. Je nach Fähigkeiten der Organismen, Enzyme in ihre Umgebung abzugeben, und je nach den Hauptverbreitungsgebieten der Organismen im Boden (z. B. Rhizosphärenbereich) können sich die verfügbaren Konzentrationen der unterschiedlichen Stoffe auch in höheren oder niedrigeren Konzentrationen befinden. Besonders auffällig ist bei der Calciumchloridextraktion in Tab. 9 (s. S. 35) die hohe Löslichkeit des Cadmiums von 20 mg/kg TS Boden. Blei zeigt in diesen Untersuchungen eine wesentlich geringere Löslichkeit trotz Gesamtgehalten bis zu 3 800 mg/kg TS Boden; sie liegt bei maximal 1,3 mg/kg TS Boden. Diese Ergebnisse bestätigen andere Untersuchungen (Alloway 1995, Heymann & Wiechmann 1996), die feststellen, daß die Verfügbarkeit und Mobilität von Cadmium in Böden im Vergleich zu anderen Schwermetallen (z. B. Blei und Kupfer) hoch ist. Mit abnehmendem pH-Wert nehmen die Mobilität und Verfügbarkeit von Cadmium in der Regel zu (Schulz & Mayer 1987, Hofer 1993).

4.2.2 Algenabundanzen

Ziel dieses Versuches war es, die Algenabundanzen in mit Blei und Cadmium belasteten Böden zu untersuchen und damit Erkenntnisse über das Wachstum der Algen in agrarwirtschaftlich genutzten schwermetallbelasteten und unbelasteten Böden unter Freilandbedingungen zu gewinnen.

Die statistische Auswertung (Dunett-Test, Signifikanzniveau 5 %) der Ergebnisse (s. S. 42) im Schwermetallversuch von 1995 zeigt, daß hoch mit Blei ($Pb\ II = 3\ 609,5\ mg/kg\ TS\ Boden$) belastete Böden eine geringere Gesamtalgendichte aufweisen und hoch mit Cadmium ($Cd\ II = 175\ mg/kg\ TS\ Boden$) belastete Böden eine höhere Gesamtalgendichte im Vergleich zur

Kontrolle. 1996 wurde ebenfalls eine signifikant geringere Algendichte in den hoch mit Blei belasteten Böden (nur Pb II) im Vergleich zur Kontrolle festgestellt. Ein offensichtlicher Unterschied zwischen den mit Cadmium belasteten Böden und der niedrigen Bleikonzentration (Pb I = 928,0 mg/kg TS Boden) zur Kontrolle konnte aufgrund der hohen Variabilitäten bei den Parallelen nicht statistisch gesichert werden. Abb. 4 (s. S. 44) zeigt, daß aber die Gesamtalgendichten bei dem hoch mit Cadmium belasteten Boden (Cd II) bei zwei Parallelen deutlich und bei einer Parallelen knapp über den Werten der Kontrolle liegen.

Eine Interpretationsmöglichkeit der Ergebnisse ist, daß Cadmium eine wachstumsfördernde Wirkung auf Algen haben könnte. Lee et al. (1995) beobachteten bei der Meereskieselalge *Thalassiosira weissflogii*, daß durch eine Reduzierung des Zinkgehaltes in dem Kulturmedium und Zugabe von geringen Mengen an Cadmium eine Erhöhung des Wachstums erzeugt wurde. Aufgrund dieser Ergebnisse besteht die Möglichkeit, daß auch bei Bodenalgen geringe Mengen an Cadmium einen wachstumsfördernden Einfluß haben. Diese Vermutung wird bestätigt durch die Wachstumsförderungen der Algen im Gel-Biotest bei niedrigen Cadmiumkonzentrationen von 0,016 mg/l OECD-Medium bis 0,13 mg/l OECD-Medium (s. Abb. 7, S. 52). Dieses als Hormesis-Effekt beschriebene Phänomen wurde z. B. in den 70er Jahren von Wiedman und Appleby (1972) für Herbizide beschrieben. Sie stellten bei der Vorauflopfanwendung von elf Herbiziden in sublethalen Dosen eine signifikante Förderung des Wurzel- und Sproßwachstums von Hafer (*Avena sativa*) fest. Paterson und Wright (1987) beobachteten bei epiphytischen Algen ebenfalls eine Stimulierung des Wachstums durch das Herbizid Diquat in niedrigen Konzentrationsbereichen und vermuteten als eine Ursache den Hormesis-Effekt. Der Hormesis-Effekt wurde inzwischen bei einer Vielzahl von Untersuchungen für Herbizide, Schwermetalle und weitere toxische Substanzen in niedrigen Konzentrationsbereichen festgestellt.

Allerdings ist die Wachstumsförderung der Algen durch die hohen Cadmiumkonzentrationen (Gesamtgehalte: 43 bis 175 mg/kg TS Boden), die in den untersuchten Böden vorlagen, fraglich. Obwohl in Abb. 7 (s. S. 52) Anzeichen für einen Hormesis-Effekt bei manchen Algen erkennbar sind, kann dies nicht die erhöhten Algenabundanzen in den cadmiumbelasteten Böden erklären, da dieser Effekt bei sehr viel geringeren Konzentrationen auftrat. Die Untersuchungen in dieser Arbeit mit den entwickelten Biotests (s. S. 55) belegen außerdem, daß für die sechs Algenarten keine Stimulierung des Algenwachstums bei Cadmiumkonzentrationen von 8,0 mg/l OECD-Mediumbodengemisch festgestellt werden konnte. Daraus läßt sich folgern, daß eine Wachstumsförderung durch einen Hormesis-Effekt, verursacht durch hohe Cadmiumkonzentrationen, sehr unwahrscheinlich ist.

Die erhöhten Algenabundanzen in den mit Cadmium belasteten Böden können auch nicht in Zusammenhang mit bestimmten Bodenparametern gebracht werden, die vielleicht nur bei den cadmiumbelasteten Böden besonders hoch oder niedrig lagen, da Wassergehalt, Leitfähigkeit, Gesamtstickstoffgehalt, mineralischer Stickstoffgehalt, organische Substanz, pH-Wert und Kohlenstoff/Stickstoff-Verhältnis in allen Böden ähnlich waren (s. Tab. A3, S. 115).

Ein weiterer Faktor für die erhöhte Algendichte könnte mit der Konkurrenz zwischen den einzelnen Mikroorganismengruppen des Bodens erklärt werden. Andere Mikroorganismen,

wie Bakterien, Pilze und Protozoen, die sich auch von Algen ernähren, könnten durch das Cadmium gehemmt werden, wodurch das Algenwachstum indirekt gefördert würde. Dies erscheint nach den vorliegenden Daten am wahrscheinlichsten. Eine abschließende Antwort wäre nur durch umfangreichere, zusätzliche Untersuchungen der Abundanzen anderer Mikroorganismengruppen in Abhängigkeit von der Bodenbelastung zu erzielen.

Die verringerten Algenabundanzen in den mit Blei belasteten Versuchspartzen gegenüber der Kontrolle werden wahrscheinlich direkt durch die hohen Bleikonzentrationen verursacht. Erhöhte Bleikonzentrationen können zu einer Hemmung der Photosynthese und des Zelllängenwachstums führen (Streit 1991). Koch (1995) stellt für Bleikonzentrationen ab 100 bis 1 000 mg/kg Boden fest, daß diese phytotoxische Wirkungen haben können und das Bodenmikroorganismenwachstum beeinflußt werden kann. In unbelasteten Böden liegen die Bleikonzentrationen bei 2 bis 60 mg/kg Boden, in anthropogen beeinflußten Böden, wie in Erzabbaugebieten des Harzvorlandes, bei bis zu 4 000 mg/kg Boden und in geringer Entfernung von verkehrsreichen Straßen bei bis zu 700 mg/kg Boden (Scheffer & Schachtschabel 1992). Burhenne (1994) stellte in Rieselfeldböden im Umland von Berlin Bleikonzentrationen von 100 bis 1 360 mg/kg TS Boden fest und Einax und Krieg (1995) wiesen in der Nähe eines Emittenten von bleihaltigem Glasstaub bis zu 600 mg/kg im Boden nach. Die Konzentrationen in den Versuchspartzen, die mit Blei kontaminiert waren, lagen bei 900 bis 3 890 mg/kg TS Boden und waren damit in dem Bereich, der für Pflanzen und Mikroorganismen toxisch wirken kann.

Weiterhin wird durch die Ergebnisse dieser Arbeit deutlich, daß es Gesamtalgenabundanzen von bis zu $1 \cdot 10^6$ Zellen/g TS Boden in landwirtschaftlich genutzten Böden (Tiefe: 0 cm bis 5 cm) geben kann. Vergleicht man die Angaben verschiedener Autoren (Carson & Brown 1978, Wöhler et al. 1998 und Hahn & Neuhaus 1997), die im Bereich von $5 \cdot 10^3$ bis $1,7 \cdot 10^6$ Zellen/g TS Boden liegen (Bodentiefen: 0 cm bis 2,5 cm und 0 bis 5 cm), so befinden sich die in dieser Arbeit ermittelten Werte im oberen Bereich. Dies zeigt, daß die Algendichte im Boden und damit auch die Biomasse häufig unterschätzt werden.

Die gegenüber der Algendichte in 0 cm bis 5 cm Bodentiefe fast doppelt so hohe Algendichte in den oberen 10 mm des Bodens (s. Abb. 3 a) und 3 b), S. 43) ist damit erklärbar, daß Algen überwiegend photoautotrophe Organismen sind. Daher ist davon auszugehen, daß Algen je nach Dichte und Lichtdurchlässigkeit des Bodens überwiegend die oberen Millimeter bis Zentimeter besiedeln und in tieferen Bodenschichten nur durch Regen verschwemmte Algen vorkommen. Allerdings sind Untersuchungen darüber bekannt, daß manche Algenarten auch ohne Licht wachsen, also zu einer heterotrophen Ernährung fähig sind (Reisigl 1964, Metting 1981).

4.3 Algen in Böden vom Darßer Ort

4.3.1 Bodenparameter

Die Ergebnisse (s. Tab. 6, S. 28) zeigen, daß die beiden Böden für die untersuchten Stoffe als unbelastet einzustufen sind. Durch ihre von urbanen Einflüssen abgesonderte Lage ist es unwahrscheinlich, daß sich in diesen Böden andere belastende und schädigende Stoffe befinden. D 5 und D 6 sind nährstoffarme Böden (s. Tab. 7, S. 29) im Vergleich zu den Böden des Schwermetallversuches (s. Tab. A3, S. 115). Beide Böden bieten nur noch wenigen Organismengruppen eine Lebensgrundlage (s. Fototafel 2, Bild 2 und 3, S. 30). Trotz des einheitlich geringen bis mäßigen Bewuchses und der homogen aussehenden Bodenoberfläche treten im Boden D 6/8 Schwankungen der Bodenparameter im Vergleich zu den anderen Bodenproben des Standortes D 6 auf.

4.3.2 Algenabundanz

Zum einen war es Ziel dieses Versuches festzustellen, ob die Heterogenität des Bodens Auswirkungen auf die Algendichte im Abstand von 20 cm hat und ob ein Zusammenhang zu bestimmten Bodenparametern besteht. Zum anderen sollten für die Biotests Bodenalgen isoliert werden, bei denen Toleranzen gegenüber Umweltchemikalien, die sich durch Bodenbelastungen oder Luftverunreinigungen ausgebildet haben, ausgeschlossen werden können. Des weiteren sollte dieser Versuch Informationen darüber geben, wie hoch die quantitative Algendichte in sandigen und nährstoffarmen Böden ist. Das Ansteigen und Abfallen der Algenabundanz von D 5/1 bis D 5/8 um das 10fache kann in keinen Zusammenhang mit den untersuchten Bodenparametern (Tab. 6 und 7, S. 28 bis 29) gebracht werden. Die maximalen eukaryontischen Algenabundanzen (Gesamtalgenzahl) liegen bei ca. 400 000 cfu/g TS Boden und sind im Vergleich zu den Werten des Schwermetallversuches 1995 und 1996 mit 800 000 bis 1 000 000 cfu/g TS Boden eher gering. Berücksichtigt man aber, daß einige der untersuchten Bodenparameter, wie der Gesamtstickstoff- und Gesamtphosphatgehalt, um die Hälfte bis um ein Vielfaches geringer sind als bei den Ackerböden der Schwermetallversuchsanlage und der pH-Wert bei D 5 bei 4,3 liegt, so sind die Algenabundanzen bei D 5 erstaunlich hoch. In agrarwirtschaftlichen Nutzflächen, bestehend aus einem anlehmigen Sandboden, stellten Hahn und Neuhaus (1997) Algendichten von 34 000 bis 160 000 cfu/g TS Boden in den oberen 5 Zentimetern fest, und auf jungen Böden, die sich in den letzten 30 Jahren auf Lavagestein (Hawaii) bildeten, kamen 5 500 bis 310 000 cfu/g TS Boden in den oberen 2,5 Zentimetern vor (Carson & Brown 1978). Die Gesamtalgendichte von 400 000 cfu/g TS Boden bei D 5 ist auch deshalb für diesen Boden als hoher Wert einzustufen, da dieser Boden keinen Schutz durch Bewuchs mit Gräsern etc. aufwies. Er war direkt Witterungseinflüssen und dementsprechend der Erosion ausgesetzt, so daß sich ein beständiger Biofilm in den oberen Millimetern des Bodens nicht aufbauen konnte. Derartige grünliche Biofilme waren besonders auf den Cadmiumparzellen der Schwermetallversuchsanlage zu beobachten (s. Fototafel 3, Bild 3, S. 45).

Die hohen Algendichten im Probenahmestandort D 6 bei D 6/1 bis D 6/3 und D 6/8 können mit der leicht erhöhten organischen Substanz und dem erhöhten Wassergehalt in Verbindung gebracht werden (s. Abb. 5, S. 46; Tab. 6 und 7, S. 28 bis 29). Schelhorn (1936) stellt eine Abhängigkeit zwischen höheren Algendichten und der Fruchtbarkeit des Bodens fest. Ettl (1980) nennt den Zusammenhang zwischen Massenvorkommen von Bodenalgen („Bodenalgenblüten“) und den günstigen Bedingungen eines nährstoffreichen Substrates. Andererseits stellt Stina (1969) fest, daß hohe organische Substanzgehalte die stärkere Vermehrung von Bodenalgen eher hemmen, da damit ein zunehmender Konkurrenzkampf mit heterotrophen Bakterien und Pilzen entsteht. Eine zunehmende Mineralisierung der organischen Substanz sowie eingebrachte Düngemittel fördern aber das Bodenalgenwachstum.

Trotz des recht einheitlichen Bewuchses und überwiegend einheitlicher Bodenparameterwerte des Probenahmeortes D 6 (bis auf D 6/8) treten in den Algenabundanzen der unterschiedlichen Proben Schwankungen um das 10fache auf. Die maximalen Werte der Gesamtalgenzahl des Bodens D 6 liegen bei 800 000 bis 900 000 cfu/g TS Boden. Vergleicht man diesen Wert mit den Maximalwerten der Schwermetallversuche von 1995 und 1996, so zeigt sich, daß sie ebenfalls bei 800 000 bis 1 000 000 cfu/g TS Boden liegen. Dies ist bemerkenswert, da bei den mit Cadmium belasteten Böden ein deutlich grüner Biofilm auf der Erde erkennbar war (s. Fototafel 3, S. 45), der dagegen bei Standort D 6 nicht festzustellen war (s. Fototafel 2, Bild 3, S. 30). Da D 6 ein natürlicher leichter bzw. sandiger Boden ist, besteht die Möglichkeit, daß Licht mehrere Millimeter tief in den Boden eindringt, so daß sich die hohen Algenabundanzen nicht nur auf die oberen 1 bis 2 Millimeter des Bodens beschränken, sondern tiefer gehen und deshalb nicht als grünlicher Biofilm zu erkennen sind. Bei den Schwermetallversuchsböden handelt es sich um einen schluffigen Sand, der im Vergleich zu Boden D 6 eine lichtundurchlässigere Struktur aufweist.

In nährstoffarmen Böden, die zeitweise stärkeren Austrocknungsprozessen ausgesetzt sind, können Gesamtalgenabundanzen von bis zu 400 000 cfu/kg TS Boden vorkommen, wie die Untersuchungen am Darßer Ort zeigten. Die Schwankungen der Algenabundanzen in einheitlich wirkenden natürlichen Böden um das 10fache zeigen, wie wichtig mehrere (mindestens acht) Parallelbeprobungen in regelmäßigen Abständen von ca. 20 cm bis 100 cm – je nach Arealgröße – sind, damit eine Abschätzung der durchschnittlichen Algendichte für einen Boden bzw. ein Bodenareal erfolgen kann.

4.4 Der Gel-Biotest für die Bewertung von Cadmium und Isoproturon

Algen werden seit mehreren Jahrzehnten als Biotestorganismen genutzt. Untersuchungen mit aquatischen (Bartlett et al. 1974, Kunert & Böger 1979a, Kunert & Böger 1979b, Bringmann & Kühn 1980, Galassi & Vighi 1981 und Höhne 1991) und terrestrischen Algen (Bauer & Köcher 1979, Shizong et al. 1997) über ihre Eignung als Testorganismen in Biotests sind bekannt. Jedoch nutzen fast alle diese Untersuchungen nur eine Algenart als stellvertretenden Testorganismus für die Gruppe der autotrophen Mikroorganismen. Daß die Beschränkung auf

eine Algenart als stellvertretender Testorganismus für die Gruppe der Algen unzureichend ist, wird durch die Untersuchungen von Loeppky und Tweedy (1969) in einem Biotest mit einem Flüssigmedium deutlich. Sie ermittelten für vier Algenarten die Sensibilität gegenüber drei Herbiziden und stellten für die Arten der Gattung *Chlorella* überwiegend eine geringere Sensibilität gegenüber den Herbiziden fest, während die Gattung *Chlamydomonas* sensibler reagierte. Dies ist von Wichtigkeit, da einige der oben genannten Biotests mit Arten aus der Gattung *Chlorella* vorgenommen wurden. Weitere Untersuchungen von Nusch (1977) und Bauer und Köcher (1979), Gerhardt und Putzger (1992), Merschhemke und Regh (1992) und Schäfer et al. (1994) bestätigen, daß unterschiedliche Arten von Algen verschiedene Sensibilitäten gegenüber Teststoffen aufweisen. Höhne (1991) weist daraufhin, daß eine Weiterentwicklung eines Biotestsystems mit dem gleichzeitigen Einsatz von Algen aus unterschiedlichen Ordnungen wünschenswert wäre.

Wie in der Einleitung dargestellt (s. Kap. 1.2.3, S. 15), wird der Algen-DIN-Test zunehmend auch für die Bewertung von Sedimenten und Bodeneluaten benutzt (Ahlf et al. 1992), obwohl er nur eine Süßwasseralgenart (*Scenedesmus subspicatus* oder *Selenastrum capricornutum*) als Testorganismus nutzt. Jedoch sollten für die Bewertung von Stoffen, die primär in Böden gelangen, oder für die Bewertung von Bodeneluaten Testorganismen ausgewählt werden, die in den entsprechenden Ökosystemen vorkommen.

Aus diesen Gründen wurden bei dem entwickelten Gel-Biotest fünf Bodenalgae als Testorganismen eingesetzt und zusätzlich *Scenedesmus subspicatus*. Alle Organismen wurden in separaten Kavitäten einer Mikrotiterplatte getestet, so daß der Gel-Biotest als ein Test mit sechs einzelnen Monospezietests zu verstehen ist. Eine Vermischung der Algen zur Nachbildung eventueller Interaktionen der verschiedenen Arten im Boden war nicht notwendig, da bereits bei der Isolierung der verschiedenen Algenarten auf Agarplatten beobachtet wurde, daß Algenkolonien sich gegenseitig überwachsen oder ineinander verlaufen, ohne daß gegenseitige Hemmeffekte oder Beeinträchtigungen festgestellt werden konnten. Andererseits hätte eine Vermischung verschiedener Arten in einer Kavität bei der photometrischen Messung eine Differenzierung des Wachstums der verschiedenen Algenarten unmöglich gemacht und damit auch die Feststellung unterschiedlicher Empfindlichkeiten der einzelnen Arten gegenüber Teststoffen.

Es kann bei den Ergebnissen nur eingeschränkt davon ausgegangen werden, daß sich die Sensibilität von fünf sehr unterschiedlichen Bodenalgarten gegenüber Teststoffen auf die Gesamtheit der mehr als 100 Algenarten, die in Böden vorkommen können, übertragen läßt. Aber die Beurteilung von möglichen Effekten ist mit fünf Bodenalgae und *Scenedesmus subspicatus* sehr viel besser durchzuführen als bei einem Biotest, der nur mit einer Wasseralgenart arbeitet.

4.4.1 Auswahl der Biotestorganismen

Um mit den ausgewählten Algen eine Vielzahl von Aspekten der unterschiedlichen Bodenalgarten abzudecken, wurde bei der Auswahl der Biotestorganismen darauf geachtet,

daß es sich um häufig aus Böden isolierte Algen handelte und die Isolierungsorte schadstofffrei waren. Neben diesen beiden Auswahlkriterien wurde besonders auf unterschiedliche Gattungszugehörigkeit, verschiedene Zellgrößen sowie Wuchs- und Vermehrungsformen geachtet. Damit sollte ein möglichst weites Spektrum der Vielfalt von Bodenalgen abgedeckt werden. Durch Unterschiede in der Zellmorphologie und Vermehrungsart ist davon auszugehen, daß diese Algen sich in dem Aufbau ihres Cytoskelettes, z. B. durch Zoosporenbildung, sowie in ihrem Verhältnis von Zellmembranoberfläche zu Cytoplasma und in ihren Stoffwechselabläufen unterscheiden. Eine hohe Vermehrungsrate deutet auf einen hohen Stoffwechselumsatz hin. Damit weisen die ausgewählten Algenarten unterschiedliche Angriffsstellen für Teststoffe auf. Da es unmöglich ist, alle in Böden vorkommenden Algenarten als Biotestorganismen einzusetzen, ist mit der Auswahl der fünf Bodenalgenarten *Xanthonema tribonematoides*, *Klebsormidium flaccidum*, *Stichococcus bacillaris*, *Xanthonema montanum* und *Chlamydomonas noctigama* und der Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus* (s. Tab. 12, S. 53 und Fototafel 4, S. 48 bis 49) für die Entwicklung eines Bodenalgenbiotests ein ökotoxikologisch sinnvoller und letztlich auch praktikabler Ansatz gewählt worden. Durch die Integration der DIN-Alge *Scenedesmus subspicatus*, für die toxikologische Kenndaten für verschiedene Stoffe vorliegen (Pattard & Pernak 1992, Schäfer et al. 1994), ist ein Vergleich mit diesen Daten möglich.

Das Wachstum von Organismen ist ein weiterer wichtiger Faktor bei der Auswahl von Arten für Biotests. Betrachtet man das Wuchsverhalten der ausgewählten Algen (s. Abb. 6, S. 51), so zeigt sich, daß *Scenedesmus subspicatus* innerhalb von 96 h die höchsten OD-Werte erreicht. Die Erhöhung der OD-Werte bei den Bodenalgen beträgt gegenüber *Scenedesmus* nur maximal ein Drittel. Trotzdem liegt die Vermehrungsrate bei einer Bodenalgenart (*Klebsormidium flaccidum*) mit einer Vervierfachung der Zellzahl in 96 h über der von *Scenedesmus subspicatus*, die eine Zellvermehrung um ungefähr das Dreifache in derselben Zeiteinheit aufweist (s. Tab. A10 bis A15, S. 126 bis 128). Alle anderen Bodenalgen verdoppeln ungefähr ihre Zellzahl in den ersten 96 h. Die unterschiedliche Auswirkung der Zelldichte verschiedener Arten auf die Meßergebnisse mit einem Photometer hängen mit der unterschiedlichen Absorption des Lichtes durch die Art des Zellwachstums zusammen. Aufgrund der Wuchsform von *Klebsormidium flaccidum* durch Bildung langer beständiger Fäden treffen die punktförmigen Lichtstrahlen des Photometers auf weniger Zellen bei gleicher Zelldichte, als wenn die Zellen einzeln und unabhängig im Medium verteilt sind, wie bei *Scenedesmus subspicatus*. Aufgrund des fädigen Wachstums konnte die Eichgerade für *Klebsormidium* nicht mit dem Zellzählkammverfahren ermittelt werden. *Klebsormidium* hat durch die spezielle Wuchsform auch die höchsten Werte in der Standardabweichung der vier Parallelen (s. Tab. A16, S. 129).

Insgesamt fällt die langsame Vermehrung von Bodenalgen gegenüber anderen Bodenmikroorganismengruppen auf. Im Vergleich dazu verdoppelt sich die Anzahl vieler Bakterienarten bereits innerhalb von 30 min bis zu wenigen Stunden (Schlegel 1985, Kleinig & Sitte 1992), und zahlreiche Actinomyceten- oder Pilzarten verdoppeln ihre Zellzahl bzw. Hyphenlänge innerhalb von einigen Stunden bis zu wenigen Tagen (Kleinig & Sitte 1992).

Die Verdoppelung der Zellzahl im Gel-Biotest bei den meisten Bodenalgen entspricht der Vermehrungsgeschwindigkeit, die beim Wachstum der Algen auf Agarplatten ebenfalls beobachtet werden konnte. Im Boden-Biotest konnte für die drei getesteten Bodenalgen eine Vermehrung um das Dreifache und für *Scenedesmus subspicatus* um das Vierfache in 96 h festgestellt werden. In diesem Bereich kann die natürliche Vermehrungsgeschwindigkeit von Algen in Böden angeordnet werden. Allerdings liegen sowohl die Vermehrungsraten im Gel-Biotest als auch im Boden-Biotest unter der Vermehrungsrate, die im DIN-Algentest mit *Scenedesmus subspicatus* erzielt wird. Hier liegt eine Vermehrungsrate der Zellen um drei bis vier Generationen vor. Die geringeren Vermehrungsraten bei den neu entwickelten Biotests sind mit der langsameren Vermehrung der Bodenalgen und der anderen Kulturtechnik, die für Mikrotiterplatten nötig ist, zu erklären. Bei Mikrotiterplatten ist keine permanente Durchmischung des Mediums, wie dies mit Erlenmeyerkolben im DIN-Algentest üblich ist, durchführbar.

Trotz der langsameren Vermehrung der Algen ist der Gel-Biotest ein Test, der über eine bzw. bei *Scenedesmus* und *Klebsormidium* zwei Generationen andauert. Aus diesem Grund kann hier tendenziell von einem chronischen Biotest gesprochen werden, in dem die Toxizitätsauswirkungen über mehrere Generationen beobachtet werden können und nicht nur innerhalb der Generation, die in das Medium gegeben wurde. Letzteres ist bei Akut-Biotests der Fall, wie z. B. dem akuten Daphnientest (DIN 38 412, Teil 11), bei dem nach 24 h die Mortalität oder Schwimmunfähigkeit der ins Medium gebrachten Organismen als Testparameter herangezogen werden. Demgegenüber benötigt der chronische Daphnientest (Reproduktionstest) eine Versuchszeit von 14 oder 21 Tagen.

4.4.2 Mikrotiterplattenmethode

Die Nutzung der Mikrotiterplattentechnik und die photometrische Bestimmung des Algenwachstums waren möglich, da die ausgewählten Algen nicht zur Aggregation oder Kahmhautbildung neigten. Diese Zellanhäufungen hätten eine homogene Verteilung der Zellen in den 250 µl der Kavität verhindert und somit auch die Möglichkeit, reproduzierbare Meßdaten mit Hilfe des Photometers zu erzielen. Höhne (1991) entwickelte ebenfalls ein Biotestsystem auf Mikrotiterplattenebene unter Nutzung der beiden DIN-Testalgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum* und unter ähnlichen Versuchsbedingungen wie beim DIN-Algentest. Allerdings nutzte Höhne nicht das OECD-Medium als Kulturmedium. In diesem Testsystem sanken die Algen während der Kulturzeit auf den Boden, was zu einer ungleichen Nährstoffversorgung der sedimentierten Zellen führen kann. Um die Messung der Algendichte mittels Photometer zu ermöglichen, mußten die Algen für jede Messung mit einem Mikrotiterplattenschüttler resuspendiert werden. Dieses Verfahren war bei der Verwendung von *Scenedesmus subspicatus* oder *Selenastrum capricornutum* begrenzt einsetzbar. Allerdings wies Höhne (1991) darauf hin, daß bei stark toxischen Teststoffen, die eine Schleimabsonderung bei den zwei Algenarten auslösten und damit eine Zellaggregation bewirkten, eine Resuspendierung nur begrenzt möglich war. Ebenso ist bei anderen Algen-

arten, die fädig wachsen oder bei der Sedimentation zur Aggregation neigen, eine gleichmäßige Resuspendierung mittels Mikrotiterplattenschüttler nicht durchführbar.

Dieses Problem wurde in vorliegender Arbeit durch die Entwicklung eines gelartigen Mediums gelöst, welches das Absinken der Zellen auf den Kavitätenboden verhindert. Ebenfalls ist mit dieser Methode eine gleichmäßige Nährstoffversorgung der Algen gewährleistet, und das Resuspendieren der Zellen kurz vor der Messung nicht mehr notwendig. Die homogene Verteilung der Zellen in den Kavitäten eignet sich sehr gut für die Messung mit einem Photometer und ermöglicht daher auch den Einsatz von fädig wachsenden oder geringfügig zur Aggregation neigenden Testorganismen. Wie die Messungen zeigen, ist eine annähernd lineare Beziehung zwischen der Zunahme der Zellzahl und der Optischen Dichte bei allen als Testorganismen verwendeten Algenarten gegeben (s. Tab. A10 bis A15, S. 126 bis 128).

Die Optische Dichte wurde mit einem 800 nm Filter gemessen, obwohl dies nicht die Wellenlänge ist, bei der die höchsten Absorptionsbereiche von Algenzellen liegen. Der Vorteil des 800 nm Filters liegt darin, daß eventuelle Verfärbungen des Mediums, z. B. durch Reaktion der Zellen mit dem Teststoff, kaum die Messung beeinflussen, da bei 800 nm überwiegend Partikel bzw. Zellen gemessen werden.

Bei der Befüllung der Mikrotiterplatten mit den Teststoffkonzentrationen (s. Abb. 1, S. 37) ist das Problem des Randeffektes der Mikrotiterplatten zu berücksichtigen. Dieser Randeffekt bewirkt, daß die äußeren Kavitäten der Mikrotiterplatte auch bei Abdichtung mit einem Mikrotiterplattendeckel und Parafilm verstärkten verdunstungsfördernden Einflüssen ausgesetzt sind (Höhne 1991, Burhenne et al. 1999). Diesem Effekt wurde entgegengewirkt, indem die äußeren Kavitäten mit Wasser aufgefüllt und nur die inneren 60 Kavitäten für Versuchsansätze genutzt wurden.

Weiterhin mußte beim Einsatz der Mikrotiterplatten beachtet werden, aus welchem Material diese bestanden. Da Mikrotiterplatten aus Quarzglas aus finanziellen Gründen für den Einsatz im Biotestsystem nicht geeignet sind, wurden handelsübliche Polystyrolmikrotiterplatten verwendet. Allerdings kann es bei Polystyrol mit einer höheren Wahrscheinlichkeit als bei Glas zu sorbierenden Effekten und damit zu unerwünschten Konzentrationsänderungen des Teststoffes im Medium kommen. Um dies auszuschließen, müssen Informationen über die chemischen Eigenschaften des Teststoffes vorliegen und im Zweifelsfall ein Vorversuch durchgeführt werden, ob die nominale Teststoffkonzentration nach ein bis vier Tagen noch im Testmedium enthalten ist. Für Cadmiumchlorid konnte nach Erfahrungen am Institut für ökologische Chemie der Biologischen Bundesanstalt mit Kunststoffen und cadmium-belasteten Böden eine Sorption des Cadmiums ausgeschlossen werden (mündl. Mitteilung Traulsen 1999). Um eventuelle sorbierende Eigenschaften des Polystyrols auf Isoproturon oder durch Beleuchtung ausgelöste Abbauprozesse des Isoproturons ausschließen zu können, wurden einige Kulturmedien nach 24 h und 96 h mit Hilfe einer HPLC-Anlage (UV-Detektor bei 242 nm) untersucht. Es konnte keine Reduzierung der Isoproturonkonzentration gegenüber der Ausgangskonzentration festgestellt werden. Um sorbierende Eigenschaften des Agars im gelartigen Medium auszuschließen, wurde das Medium filtriert und somit der

überwiegende Anteil des Agars vom Medium getrennt. Die Untersuchung des nahezu agarfreien Mediums ergab ebenfalls keine deutliche Reduzierung des Isoproturongehaltes.

In dem entwickelten Gel-Biotest wurde das Kulturmedium aus dem DIN-Algen- und OECD-Algen-Test (OECD 201, DIN 28 692) eingesetzt. Es hat durch seinen geringen Anteil an Nährstoffen gute Voraussetzungen, um die Testsubstanz in ihrer gesamten Konzentration auf den Testorganismus wirken zu lassen, ohne daß die Testsubstanzen Reaktionen mit einem Teil der Chemikalien im Nährmedium eingehen.

4.4.3 Standardisierung des Gel-Biotests

Die Standardisierung einer Methode oder eines Testes ist die Grundlage, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Ein häufiges Problem bei der Bewertung von Daten, die mit Hilfe von Biotests gewonnen wurden, ist deren relativ große Variabilität im Vergleich zu Daten, die mit chemisch-analytischen Methoden ermittelt wurden. Dies liegt unter anderem an der biologischen Variabilität der Testorganismen (Guilhermon et al. 1996). Pestemer (1996) gab für Pflanzenbiotests bei genauer Versuchsdurchführung und sorgfältiger Auswahl der Testpflanzen eine Variation von 10 % zwischen den einzelnen Wiederholungen an. Fent (1998) ging allgemein von einer Variabilität zwischen den einzelnen Wiederholungen eines Biotests um den Faktor 5 aus. Dieser Faktor konnte auf 10 ansteigen, wenn ein und derselbe Biotest in verschiedenen Laboren durchgeführt wurde (Fent 1998). Nyffeler et al. (1982) stellten bei unterschiedlich stark standardisierten Pflanzenbiotests eine Abweichung der Ergebnisse um den Faktor 5 bis 20 fest. Die Variation entstand besonders durch Unterschiede in der praktischen Versuchsdurchführung und den verschiedenen Pflanzenkulturbedingungen zwischen den Laboren. Streibig et al. (1995) ermittelten für Pflanzenbiotests, die in 12 verschiedenen Laboren durchgeführt wurden, durchschnittlich Abweichungen um den Faktor 10 und in Ausnahmen Abweichungen bis zu einem Faktor um 50. Der Variationskoeffizient zwischen den einzelnen Laboren betrug 10 % bis 56 %. Seiden et al. (1998) stellten für einen Pflanzengewebekulturbiotest, der mit zwei Herbiziden durchgeführt und viermal wiederholt wurde, einen Variationskoeffizienten für den ED₅₀-Wert von 44 % bis 48 % fest. Tab. 15 (s. S. 73) und 16 (s. S. 74) zeigen für verschiedene Organismengruppen die EC₅₀-Werte für Cadmium und Isoproturon, die mit verschiedenen Biotestorganismen ermittelt wurden. Besonders für den Biotest mit *Daphnia magna* wird deutlich, wie die Ergebnisse aus unterschiedlichen Untersuchungen variieren.

Zur Überprüfung, ob der vorliegende Gel-Biotest reproduzierbare Ergebnisse liefert, wurde der gesamte Versuch, der pro Konzentration jeweils vier Parallelen aufwies, für den Teststoff Cadmiumchlorid viermal wiederholt. Damit wurde geprüft, ob sich geringe Schwankungen bei der Kulturtemperatur, Lichtintensität, Pipettierungsungenauigkeiten sowie das Neuansetzen der Testorganismen wesentlich auf das Wachstum der Algen auswirkten. Dies war in einem tolerierbaren und für Biotests üblichen Rahmen der Fall. Der Variationskoeffizient der Mittelwerte für den viermal durchgeführten Versuch mit Cadmiumchlorid (s. Abb. 7, S. 52) betrug durchschnittlich 10 % bis 30 %, bei *Klebsormidium* aufgrund des fädigen Wachstums

auch bis ca. 40 %. Die Standardabweichung ist in Abb. 7 dargestellt. Der Variationskoeffizient der vier Parallelen innerhalb eines Versuches betrug in der Regel 5 % bis 10 %, bei *Klebsormidium* selten um 20 %.

Nachdem die Ergebnisse der ausführlichen methodischen Untersuchungen des Gel-Biotests mit Cadmium deutlich machten, daß die Abweichungen zwischen den vier neu angesetzten Versuchen für Biotests relativ gering waren und damit die Qualität der Standardisierung überprüft wurde, wurde bei dem weiteren Einsatz des Gel-Biotests beim Teststoff Isoproturon nur noch ein Versuch mit vier Wiederholungen durchgeführt. Die Standardabweichung der vier Parallelen innerhalb eines Versuches betrug, ähnlich wie beim Test mit Cadmiumchlorid, innerhalb eines Versuches in der Regel 5 % bis 10 % des mittleren Meßwertes und bei *Klebsormidium* bis ca. 20 % (s. Tab. A16, S. 129). Die Konfidenzintervalle der errechneten EC₅₀-Werte der vorliegenden Untersuchung ähnelten den Intervallen von Untersuchungen, die mit dem Algen-DIN-Test durchgeführt wurden. Kirby & Sheahan (1994) ermittelten für *Scenedesmus subspicatus* einen EC₅₀-Wert bei Isoproturon von 0,021 mg/l OECD-Medium mit einem Konfidenzintervall von 0,015 bis 0,027 mg/l OECD-Medium. In der vorliegenden Untersuchung betrug der vergleichbare Wert 0,42 mg/l OECD-Medium mit einem Intervall von 0,34 bis 0,54 mg/l OECD-Medium (s. Tab. 12, S. 53).

4.4.4 Toxikologische Kennwerte für Cadmium und Isoproturon im Gel-Biotest

Aus den EC₁₀- und EC₅₀-Werten (s. Tab. 12, S. 53) wird deutlich, daß die sechs Algenarten unterschiedlich auf Cadmium und Isoproturon reagieren. Für Cadmium gibt es eine Variation um den Faktor 80 beim EC₁₀- und den Faktor 25 beim EC₅₀-Wert, beim Isoproturon eine Variation um den Faktor 10. Womit können die unterschiedlichen Empfindlichkeiten der Algen gegenüber den beiden Teststoffen erklärt werden?

Eine Erklärungsmöglichkeit könnte die Größe der Zellen sein. Kleine Algenzellen könnten besonders empfindlich gegenüber Teststoffen sein, da ihre Zelloberfläche im Vergleich zum Zellvolumen groß und dadurch ein intensiverer Kontakt mit einem Teststoff gegeben ist als bei großzelligen Algen. Diese Hypothese läßt sich durch die Versuchsergebnisse sowohl für Cadmium als auch für Isoproturon nicht bestätigen, da gerade die kleinste Alge *Stichococcus bacillaris* eine der weniger empfindlichen Algen ist, insbesondere bezüglich Isoproturon. Dagegen gehört *Xanthonema tribonematoides* als sehr großzellige Alge hinsichtlich Isoproturon zu den empfindlicheren Algen.

Eine weitere Erklärung für die unterschiedlichen Sensibilitäten beim Cadmium könnte in der Höhe der Zellvermehrung liegen. Tab. 12 (s. S. 53) und Tab. A10 bis A15 (s. S. 126 bis 128) zeigen, daß die Algen am empfindlichsten sind, die das schnellere Wachstum aufweisen (*Scenedesmus subspicatus* und *Klebsormidium flaccidum*). Sie werden wahrscheinlich im gleichen Zeitintervall verhältnismäßig mehr Cadmiumionen aufnehmen als die langsamer wachsenden vier anderen Bodenalgenarten. Für Cadmium ist bekannt, daß es schon in geringen Konzentrationen toxisch wirken kann. Man vermutet, daß die toxische Wirkung durch die mehrwertigen Schwermetallionen hervorgerufen wird, die die Eigenschaft haben,

Komplexverbindungen einzugehen und somit Enzymsysteme empfindlich zu stören (Streit 1991). Da eine höhere Vermehrungsrate meistens einen schnelleren Stoffwechsel zur Folge hat und damit auch eine höhere Syntheserate von Enzymen, ergänzen sich die Vermutungen über die toxische Wirkung der Schwermetallionen auf das Enzymsystem und über die höhere Sensibilität bei schneller wachsenden Algen. Krawczynska et al. (1989) stellten bei der Protistenart *Tetrahymena pyriformis* nach Kontamination des Mediums mit Cadmiumchlorid ebenfalls eine toxische, wachstumshemmende Wirkung fest, die durch elektronenmikroskopische Untersuchungen mit Abnormalitäten in der Ultrastruktur der Zellen erklärt werden konnte. Baunemann und Höfner (1991) konnten für *Scenedesmus subspicatus* nachweisen, daß von den Schwermetallen Cadmium, Kupfer, Nickel und Zink, Cadmium am stärksten von den Algen aufgenommen wurde und ebenfalls das Wachstum der Alge reduzierte. In der Untersuchung von Baunemann und Höfner (1991) konnte nur für die mit Cadmium kontaminierten Algen die Bildung eines cadmium-metallothionein-ähnlichen Proteins beobachtet werden. Metallothioneine sind schwermetallbindende cytoplasmatische Proteine und Peptide, deren Synthese durch Eintritt von Schwermetallen ins Zellinnere induziert wird (Richardson 1993). Diese Metallothioneine werden auch als Schwermetall-streßproteine bezeichnet, da sie in der Lage sind, Schwermetallionen zu binden (Morselt 1986) und diese dadurch als Stressoren für die Zelle ausschließen (Libbert 1987). Damit wäre erklärbar, warum einige Algen im Gel-Biotest und im Schwermetallversuch eine sehr hohe Toleranz gegenüber Cadmium aufweisen. Die Testalgen könnten eine unterschiedliche Induzierbarkeit der Metallothioneine und/oder unterschiedliche Strategien haben, die durch die Synthese der Metallothioneine verbrauchte Energie zu ersetzen. Dadurch sind möglicherweise einige Algen besonders effektiv in der Lage, die Cadmiumionen durch ihre Metallothioneine zu binden, bevor diese störend in das enzymatische System eingreifen können.

Die Erklärung, daß die Algen mit der höheren Reproduktionsfähigkeit am empfindlichsten gegenüber dem Teststoff sind, kann nicht für die ermittelten EC₁₀- und EC₅₀-Werte bei Isoproturon herangezogen werden, da bei diesem Stoff alle Algen außer *Stichococcus bacillaris* nah beieinanderliegende Werte haben, obwohl sich die Algenarten in ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit unterscheiden.

Isoproturon ist ein Phenylharnstoff, der bei höheren Pflanzen über die Blätter und Wurzeln aufgenommen wird (Perkow & Ploss 1992, Domsch 1992) und innerhalb der Zellen das Photosynthesystem II angreift, indem es sich an die Chloroplastenmembran bindet und den Elektronentransport hemmt (Hock et al. 1995). Simonis (1987) vermutet, daß eine Herbizidsorption in Mikroalgen zunächst durch eine Diffusion vom Medium in die Lipidphase der Zellen gemäß einem Verteilungsgleichgewicht erfolgt. Erst von der Lipidphase aus kommt es dann wahrscheinlich zu einer spezifischen Bindung an Proteine. Die selektive Wirkung von Photosynthesehemmern, die das Photosynthesystem II angreifen, beruht auf unterschiedlichen Bindungsaffinitäten an die Thylakoidmembranen, die bei manchen Gräsern hoch ist, aber z. B. bei Weizen gering (Pfister et al. 1979, McIntosh et al. 1981). Es könnte sein, daß bei *Stichococcus bacillaris* ebenfalls eine schwächere Bindung des Isoproturons an die Thylakoidmembran möglich ist als bei den anderen Algen und diese Algenart deshalb etwas unempfindlicher ist.

Letztendlich ist zu vermuten, daß beim Cadmium die Wachstumsgeschwindigkeit und damit die unterschiedlich schnelle Aufnahme des Teststoffes der wahrscheinlichste Faktor für die unterschiedliche Sensibilität ist und beim Isoproturon die unterschiedliche Bindungsfähigkeit an die Chloroplastenmembran. Als weitere Erklärungsmöglichkeit könnten Unterschiede in Struktur und Stärke der Zellwand und Zellmembran genannt werden. Zur Überprüfung dieser Vermutung wären weitere Untersuchungen mit speziellen Arbeitstechniken erforderlich, wie z. B. elektronenmikroskopische Untersuchungsmethoden, die im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden konnten. Zukünftige Studien müssen zeigen, welche Faktoren letztlich dafür verantwortlich sind, daß manche Algenarten empfindlicher als andere gegenüber Cadmium und Isoproturon sind.

Der Gel-Biotest kann in bezug auf die Testsubstanz Cadmiumchlorid als eingeschränkt empfindlich eingestuft werden. Der im Rahmen der Trinkwasserverordnung vorgegebene Grenzwert für Cadmium liegt bei 0,005 mg/l. Der Cadmiumgehalt in unbelasteten Böden liegt im allgemeinen in Größenordnungen von 0,06 bis 1,00 mg/kg TS Boden (Koch 1991). Die empfindlichsten Algen *Klebsormidium* und *Scenedesmus* weisen zwar schon bei einer Cadmiumkonzentration von 0,3 bis 0,4 mg/l OECD-Medium eine 50%ige Hemmung auf und der EC₁₀-Wert für *Klebsormidium* liegt bei 0,003 mg/l, doch liegen die EC₅₀-Werte für die anderen Algen bei 2 mg/l bis 8 mg/l OECD-Medium.

Vergleicht man diese Werte mit Ergebnissen aus anderen Biotests, so zeigt sich für *Scenedesmus* und *Klebsormidium*, daß sie empfindlicher gegenüber Cadmiumchlorid sind als die in Tab. 15 (s. S. 73) dargestellten Biotests mit Bakterien, Fischen und dem Seeigel *Strangylocentrotus droebachiensis*. Eine vergleichbare Empfindlichkeit besteht mit den Testorganismen *Tetrahymena* und *Daphnia*, wobei für *Daphnia* meistens ein EC₅₀-Wert, der um den Faktor 10 empfindlicher ist, festgestellt wurde. Sowohl bei *Tetrahymena* als auch bei *Daphnia* wird die Variabilität der Ergebnisse von unterschiedlichen Untersuchungen deutlich. Die Untersuchung von Traunsburger et al. (1995) zeigt ebenfalls ein um den Faktor 5 empfindlicheren EC₅₀-Wert für Nematoden. Der direkte Vergleich der EC₅₀-Werte aus den Biotests mit Flüssignährmedien mit EC₅₀-Werten aus Pflanzenbiotests ist nur eingeschränkt möglich, da letztere fast immer direkt in Böden oder bodenähnlichen Substraten stattfinden und dadurch eine andere Bioverfügbarkeit der Testsubstanz gegeben ist als in flüssigen Nährmedien. Beispielhaft für einen Pflanzenbiotest ist der EC₅₀-Wert für die Herbstrübe *Brassica rapa* angegeben, der um den Faktor 250 höher liegt als für *Scenedesmus* und *Klebsormidium*. Ein weiterer Vergleich der Empfindlichkeit von Bodenalggen und Pflanzen in Bodenbiotests wird in Kap. 4.5.3 (s. S. 83) gegeben.

Für Isoproturon zeigt sich (s. Tab. 12, S. 53), daß eine 50%ige Hemmung des Algenwachstums bei Isoproturonkonzentrationen von ca. 0,25 mg/l bis 1,0 mg/l OECD-Medium auftritt, mit der Ausnahme bei *Stichococcus bacillaris* mit einem EC₅₀-Wert von 2,74 mg/l OECD-Medium. Tab. 15 (s. S. 73) ermöglicht den Vergleich der EC₅₀-Werte der Algenarten *Scenedesmus subspicatus*, *Xanthonema tribonematoides* und *Klebsormidium flaccidum* mit Testorganismen anderer Biotests, die in Wasser oder wasserähnlichen Flüssigmedien durchgeführt werden.

Tab. 15: Vergleich der EC₅₀-Werte für Cadmiumchlorid aus Biotests mit unterschiedlichen Testorganismen in Flüssignährmedien (Ausnahme: Pflanzenbiotest), Cadmiumchlorid als Cadmium in mg/l angegeben

Testorganismus	Zeit in Stunden	EC ₅₀ -Werte in mg/l ²⁾ LC ₅₀ -Werte in mg/l	Literatur
Bakterien			
<i>Salmonella typhimurium</i> 1535	8	10,4	Canton & Sloof (1982)
<i>Vibrio fischeri</i> ¹⁾	1/4	20,0	Chou & Hee (1994)
Algen			
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	96	0,44	vorliegende Studie
	48	0,22	Kühn & Pattard (1990)
	72	0,14	Kühn & Pattard (1990)
	72	0,032	Schäfer et al. (1994)
<i>Klebsormidium flaccidum</i>	96	0,33	vorliegende Studie
<i>Selenastrum capricornutum</i>	96	0,341	Chen et al. (1997)
<i>Chlorella vulgaris</i>	96	3,7	Canton & Sloof (1982)
Ciliaten			
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	48	0,78	Schäfer et al. (1994)
	24	0,04	Huber et al. (1991)
Wasserflöhe			
<i>Daphnia magna</i>	48	0,03	Canton & Sloof (1982)
	48	0,08 ²⁾	Hall et al. (1986)
	48	0,0095	Guilhermino et al. (1996)
	48	0,033-0,14 ³⁾	Mark & Solbé (1998)
Nematoden			
<i>Caenorhabditis elegans</i>	96	0,061	Traunsburger et al. (1995)
Fische			
<i>Poecilia reticulata</i> (Guppy)	96	1,27 ²⁾	Pickering & Henderson (1966)
	96	11,1	Canton et al. (1982)
<i>Salmo gairdneri</i> (Regenbogenforellenart)	96	2,6 ²⁾	Pascoe et al. (1986)
Seeigel			
<i>Strangylocentrotus droebachiensis</i> , Embryo	120	1,8	Dinnel et al. (1989)
Pflanzen ⁴⁾			
<i>Brassica rapa</i> (Herbstrübe)	240	111,5 ⁴⁾	Günther & Pestemer 1990

¹⁾ *Vibrio fischeri* ist ein marines Bakterium, das in einem kommerziell vertriebenen MICROTOX-Biotest erhältlich ist.

²⁾ Angegeben ist der LC₅₀-Wert in mg/l

³⁾ EC₅₀-Mittelwertbereich aus 13 Studien

⁴⁾ Der Pflanzenbiotest wurde im Boden durchgeführt, die Stoffangabe war Cadmiumchlorid mg/kg TS Boden.

Die dargestellten Algenarten vorliegender und anderer Untersuchungen in Tab. 16 weisen eine ähnliche Sensibilität gegenüber Isoproturon mit einer überwiegenden Schwankungsbreite um den Faktor 10 auf. *Stichococcus bacillaris* stellt in der Gruppe der Algen die Art mit der etwas geringeren Sensibilität dar (s. Tab. 12, S. 53).

Tab. 16: Vergleich der EC₅₀-Werte für Isoproturon aus Biotests mit unterschiedlichen Organismen in Flüssignährmedien

Testorganismus	Zeit in Tagen	EC ₅₀ -Werte in mg/l ¹⁾ LOEC in mg/l)	Literatur
Algen			
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	4	0,42	vorliegende Studie
	4	0,03	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
	4	0,021	Kirby & Sheahan (1994)
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	4	0,35	vorliegende Studie
<i>Klebsormidium flaccidum</i>	4	0,84	vorliegende Studie
Wasserflöhe			
<i>Daphnia magna</i>	2	447,0 ¹⁾²⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
	21	40,0 ¹⁾³⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
	21	0,32 ¹⁾⁴⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
	2	507,0	Perkow & Ploss (1992)
Fische			
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Regenbogenforellenart)	4	37,2	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
	4	37,0	Perkow & Ploss (1992)
<i>Carassius auratus</i> (Goldfisch)	4	100,0	Perkow & Ploss (1992)
<i>Poecilia reticulata</i> (Guppy)	4	90,0	Perkow & Ploss (1992)
Wasserpflanzen			
<i>Lemna minor</i>	10	0,033 ⁵⁾	Kirby & Sheahan (1994)

¹⁾ Angabe des LOECs

²⁾ Testsubstanz während des Versuches ausgefallen, da keine Lösungsmittel eingesetzt wurden

³⁾ Meßparameter war die Mortalität

⁴⁾ Meßparameter war die Reproduktion

⁵⁾ Meßparameter war das Frischgewicht

Etwas sensibler als die in Tab. 16 dargestellten Algenarten reagiert *Lemna minor*. Deutlich von diesen beiden Organismengruppen heben sich die EC₅₀-Werte der verschiedenen Fischarten und *Daphnia magna* ab, die um den Faktor 100 bis 1 000 höher liegen. Für *Daphnia magna* wird durch den Vergleich der LOEC-Werte der unterschiedlichen Biotests deutlich (Tab. 16), welchen Einfluß es hat, wenn bei Biotests die Meßparameter, wie hier Mortalität oder Reproduktion, und die Versuchslänge verändert werden.

Für *Vibrio fischeri* oder vergleichbare Bakterientests mit einer Bakterienart sowie für *Tetrahymena pyriformis* und *Caenorhabditis elegans* konnten keine Daten aus der Literatur ermittelt werden.

Es zeigt sich, daß die verschiedenen Algenarten und *Lemna minor* als Biotestorganismen eine besonders hohe Sensibilität im Vergleich zu anderen Arten gegenüber Isoproturon besitzen. Dies ist mit der spezifischen Wirkung des Isoproturons auf das Photosynthesystem zu erklären. Dieses Ergebnis bestätigt die Untersuchung von Knie (1992), der ebenfalls für Algen als Testorganismen eine besonders hohe Sensibilität gegenüber Stoffen, die eine Auswirkung auf das Photosynthesystem haben, feststellte. Damit kann der Gel-Biotest für Isoproturon als empfindlicher Biotest eingestuft werden.

Der entwickelte Gel-Biotest ermöglicht die Bestimmung toxikologischer Kenndaten mit mehreren Algenarten als Biotestorganismen mit Hilfe der Mikrotiterplattentechnik gegenüber Teststoffen im flüssigen Medium. Er läßt eine differenzierte Aussage über die Reaktion verschiedener Algen aus zwei Lebensräumen (Wasser und Boden) auf Teststoffe zu.

4.4.5 Vorteile des Gel-Biotests gegenüber dem DIN-Algentest

Die Vorteile des entwickelten Gel-Biotests mit Mikrotiterplatten gegenüber dem DIN-Algentest liegen in der Miniaturisierung des Testsystems und der Vielfalt der Testorganismen. Im DIN-Algentest werden häufig 250 ml Kolben mit je 100 ml Medium pro Kolben genutzt, demgegenüber werden im Gel-Biotest nur 250 µl je Kavität benötigt. Berücksichtigt man, daß Teststoffkonzentrationen nicht in zu kleinen Medienmengen angesetzt und verdünnt werden können, so beträgt der Medienbedarf trotzdem nur ungefähr ein Hundertstel des Medienbedarfes des DIN-Algentests. Damit sind durch die Miniaturisierung eine wesentliche Reduzierung des häufig toxischen Medienabfalls und der Kosten gegeben.

Zusätzlich wird durch den Einsatz der Mehrkanalpipette und Messung der Optischen Dichte im Mikrotiterplattenphotometer eine wesentliche Zeitersparnis beim Ansetzen und Auswerten des Versuches erreicht. Aufgrund dieser Faktoren ist es erst möglich, sechs Algen innerhalb eines Biotests mit zehn Teststoffkonzentrationen einschließlich der Kontrollen zu untersuchen. Ebenso ist durch den entwickelten Biotest eine erhebliche Platzersparnis in Kulturräumen bzw. Kulturschränken gegeben. Würde der Gel-Biotest mit seinen 6 Testorganismen mit 250 ml Erlenmeyerkolben durchgeführt, so würden pro Versuch mit je vier Wiederholungen ca. 200 Erlenmeyerkolben benötigt werden.

Es stellt sich aber die Frage, ob die Miniaturisierung des Biotests nicht Auswirkungen auf dessen Sensibilität und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse hat. Höhne (1991) verglich den Wachstumsverlauf und die EC_{50} -Werte von *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum* im Mikrotiterplattentest und im DIN-Algentest mit Erlenmeyerkolben für die Teststoffe Kaliumdichromat und Kaliumchlorat und konnte keinen wesentlichen Unterschied in den Ergebnissen feststellen. Allerdings wich er von dem vorgeschriebenen DIN- und OECD-Medium ab, um höhere Vermehrungsraten der Algen innerhalb von 96 h zu erhalten.

Da es in der vorliegenden Untersuchung ein Ziel war, die ermittelten Daten des Gel-Biotests, insbesondere für *Scenedesmus subspicatus*, mit Daten, die man mit dem DIN-Algentest erhielt, zu vergleichen, wurde im Gel-Biotest das OECD-Medium eingesetzt. Das führte aber zu einem langsameren Algenwachstum verglichen mit dem DIN-Algentest mit Erlenmeyerkolben, die während der Kulturphase geschüttelt werden. Da aber ein Vergleich der Ergebnisse zwischen Biotests mit unterschiedlichen Nährmedien nur unzureichend möglich ist, wurde das langsamere Wachstum im Gel-Biotest in Kauf genommen und kein Medium eingesetzt, daß das Wachstum erhöhen würde.

Schäfer et al. (1994) stellten in Untersuchungen mit dem DIN-Algentest mit *Scenedesmus subspicatus*, durchgeführt in Erlenmeyerkolben und der Testsubstanz Cadmiumchlorid, einen EC_{50} -Wert nach 72 h mit einer Cadmiumkonzentration von 0,032 mg/l fest. Kühn und Pattard (1990) ermittelten mit dem DIN-Algentest nach 48 h einen EC_{50} -Wert bei einer Cadmiumkonzentration von 0,22 mg/l und nach 72 h einen EC_{50} -Wert von 0,14 mg/l. Dem gegenüber steht das Ergebnis des Gel-Biotests nach 96 h mit einem EC_{50} -Wert von 0,44 mg/l für *Scenedesmus subspicatus* (s. Tab. 12, S. 53). Berücksichtigt man, daß es bei der Durchführung gleicher Biotestverfahren in unterschiedlichen Laboren zu Abweichungen um den Faktor 10 kommen kann (Fent 1998), liegen die Ergebnisse des Gel-Biotests und der genannten Untersuchungen relativ dicht beieinander. Allerdings ist dieser Vergleich der Einschränkung unterworfen, daß die Auswertung mit dem DIN-Algentest nach 72 h und mit dem Gel-Biotest nach 96 h stattfand. In anderen Biotestverfahren mit Flüssigmedien, die vor der Normierung des DIN-Algentestes entwickelt oder mit anderen Algenarten durchgeführt wurden, hat man für Cadmium gegenüber *Scenedesmus quadricauda* eine beginnende Schadwirkung bei einer Cadmiumchloridkonzentration ($CdCl_2 \cdot 2 \frac{1}{2} H_2O$) von 0,1 mg/l Medium festgestellt (Bringmann & Kühn 1959) und für *Selenastrum capricornutum* einen EC_{50} -Wert nach 96 h mit einer Cadmiumkonzentration von 0,341 mg/l (Chen et al. 1997).

Für Isoproturon ist im Wirkstoffdatenblatt der BBA (1993) für den DIN-Algentest mit *Scenedesmus subspicatus* ein EC_{50} -Wert mit einer Isoproturonkonzentration von 0,03 mg/l angegeben. Kirby und Sheahan (1994) ermittelten einen Wert von 0,021 mg/l mit *Scenedesmus subspicatus* im DIN-Algentest. Diese Werte liegen ungefähr um den Faktor 10 niedriger als der EC_{50} -Wert im Gel-Biotest mit 0,42 mg/l. Es ist eine etwas geringere Sensibilität gegenüber dem DIN-Algentest vorhanden, die aber wie beim Cadmiumchlorid auch noch im Rahmen der feststellbaren Abweichungen (ca. Faktor 10) zwischen Laboren, die den gleichen Biotest durchführen, liegt.

Anhand des Vergleiches toxikologischer Kennwerte, die mit dem DIN-Algentest und Gel-Biotest mit *Scenedesmus subspicatus* und dem Teststoff Camiumchlorid und Isoproturon ermittelt wurden, wird deutlich, daß der Gel-Biotest eine ähnliche Sensibilität wie der DIN-Algentest besitzt.

Des weiteren zeigt sich, daß toxikologische Kennwerte von Teststoffen für eine Organismengruppe nur anhand bis zur Artebene festgelegter Testorganismen und genau standardisierter Testmethoden ermittelt werden sollten. Nur dann ist der Vergleich mit Untersuchungen anderer Forschergruppen möglich. Sobald sich eine Veränderung des Mediums, der

Kulturbedingungen oder der Art ergibt, ist ein Vergleich der Ergebnisse eines Biotests nur noch eingeschränkt oder gar nicht mehr möglich und damit die Anwendung dieses Biotests im nationalen und internationalen Bereich nicht empfehlenswert.

4.5 Der Boden-Biotest für die Bewertung von Cadmium und Isoproturon

4.5.1 Methode

Wie in Kap. 1.2.3 (s. S. 14) dargestellt wurde, existieren verschiedene Untersuchungen über aquatische und terrestrische Algen als Biotestorganismen. Nur ein geringerer Teil dieser Untersuchungen beschäftigt sich mit der Eignung und Nutzung von Bodenalgen als Biotestorganismen, und nur sehr wenige Arbeiten haben den Versuch unternommen, Biotests mit Bodenalgen und einem Boden oder einer bodenähnlichen Matrix zu entwickeln. In diesen Arbeiten wurden verschiedene Wege erprobt, bodenähnliche Substrate in einen Biotest zu integrieren. Es wurden immer wieder die Schwierigkeiten der Messung des Algenwachstums im Boden oder der bodenähnlichen Matrix diskutiert.

Jansen et al. (1958) entwickelten einen Biotest, bei dem der Boden durch Perlite als Wachstumssubstrat nachgeahmt wurde. Da Perlite nicht mit einem natürlichen Boden verglichen werden kann, sollte dieser Test nicht als ein Bodenbiotest angesehen werden. Ebenso kann die Methode von Wright (1975) auch nicht als Bodenbiotest bezeichnet werden, da hier das Algenwachstum auf Agarpetrischalen ohne Beteiligung eines Bodens als Wachstumssubstrat stattfindet. Dann gab es Versuchsansätze über die Trennung von Algen und Boden über einen Cellulosebehälter, in dem sich der Boden befand (Aktins & Tchan 1967, Lefebvre-Drouet & Calvet 1983). In diesem Fall waren die Algen letztlich wieder in einem Flüssigmedium, und ein natürliches Wachstum der Algen im Boden war nicht möglich. In einer weiteren Untersuchung wurde das Algenwachstum mit Hilfe eines beimpften Filterpapiers, das auf den Boden aufgelegt wurde, beobachtet (Pillay & Tchan 1972). Auch bei dieser Methode ist ein natürlicher Kontakt zwischen Bodenalgen und Boden nicht gewährleistet. Ebenso ergab sich bei der Methode von Pipe und Cullimore (1980) die Schwierigkeit, daß die in den Boden eingeführten Objektträger nicht immer einen gleichmäßigen Kontakt zum Boden hatten und die mikroskopische Auswertung zeitaufwendig war und bei größeren Aggregaten von Zellhaufen ungenau.

Bei weiteren Arbeiten, in denen die Algen direkt im Boden wuchsen und Aussagen über die Algendichte pro g TS Boden getroffen werden sollten, wurden folgende Wege beschritten. Es wurde die Algendichte über den Chlorophyllgehalt des Bodens ermittelt (Ria & Mallick 1993, Hammel et al. 1998) oder die Agarplattenmethode gewählt, also die Aufbringung einer verdünnten Erdsuspension auf Agarplatten und Auszählung der Koloniedichte (Musset 1994, Sauthoff & Oesterreicher 1994, Neuhaus et al. 1997). Letztere Methode hat den Nachteil, daß eine Auswertung der Ergebnisse erst nach ca. drei Wochen möglich ist. Bei der Bestimmung des Chlorophyllgehaltes muß ein hohes Algenwachstum im Boden vorliegen, damit eine

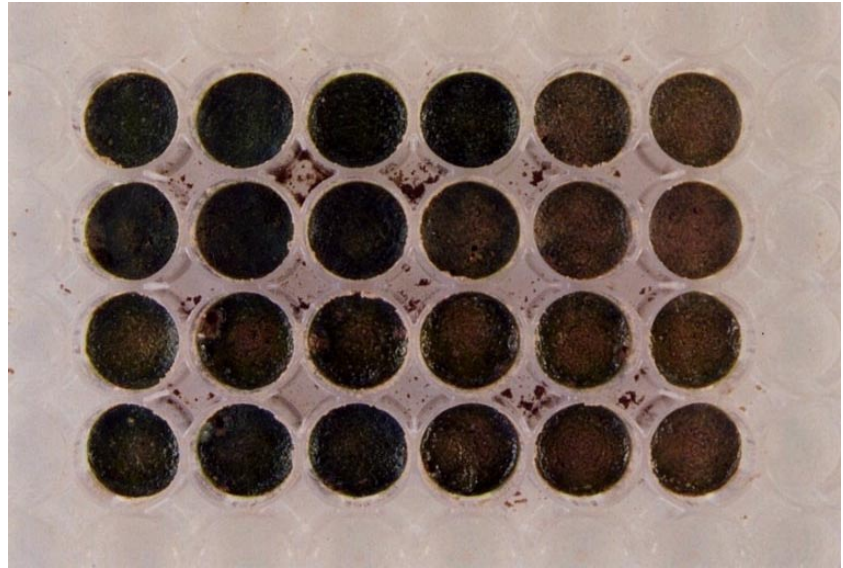
photometrische Messung überhaupt möglich ist. Dies war im Boden-Biotest der vorliegenden Arbeit nicht innerhalb von 96 h zu erreichen. Die drei getesteten Bodenalgae verdreifachten ihre Zellzahl, und *Scenedesmus subspicatus* vervierfachte sie innerhalb der 96 h. Hammel et al. (1998) werteten erst nach 14 Tagen Kulturdauer ihren Biotest per Chlorophyllbestimmung aus und erreichten dadurch höhere Vermehrungsraten. Drew und Anderson (1977) beschritten den Weg der Bestimmung der Algendichte mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes und einer Zelläskammer, indem sie die Erde verdünnten und somit die Algendichte mikroskopisch bestimmbar wurde. Allerdings wurden nur die Gesamtalgendichten bestimmt. Eine sichere Bestimmung von verschiedenen Arten anhand einzelner Zellen in einer Erdsuspension ist grundsätzlich nicht durchführbar (Ettl & Gärtner 1995). In der vorliegenden Arbeit wurde, ähnlich wie bei Drews und Anderson (1977), das Wachstum der Algen im Boden bestimmt, indem durch Verdünnung des Biotestbodens und mikroskopische Auswertung mittels einer Neubauer-Zelläskammer die Wachstumsrate ermittelt wurde (s. Fototafel 5, Bild 3, S. 79).

Der BBA-Boden, der im entwickelten Biotest eingesetzt wurde, ist besonders geeignet als Testboden, da es sich um einen schwach humosen schluffigen Sand mit einer organischen Substanz von 1,8 % handelt. Damit ist der Testboden als ein sorptionsschwacher Boden einzustufen. Bei sorptionsschwachen Böden werden gegenüber sorptionsstarken Böden geringere Anteile an Bodenschadstoffen oder Pflanzenschutzmitteln an die organische Substanz oder Tonminerale gebunden (Gisi et al. 1990). Es kann ein größerer Anteil bioverfügbar bleiben, damit auch leichter ausgewaschen werden und dadurch in Oberflächen-gewässer und ins Grundwasser gelangen. Somit können mit diesem Biotestboden Sorptionsphänomene und die Bioverfügbarkeit von Stoffen nachgeahmt werden, die in zahlreichen Böden mit ungefähr ähnlichen Bodenparametern im Freiland ebenfalls stattfinden. Nach Mückenhausen (1974) beträgt der Anteil an Sand- und lehmigen Sandböden in den alten Bundesländern 20 %. Der eingesetzte Testboden wurde bisher im Institut für ökologische Chemie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin für unterschiedliche Pflanzentests eingesetzt (Pestemer & Günther 1993). Aus diesem Grund lagen zahlreiche Untersuchungsergebnisse über dessen eventuelle Belastung durch Xenobiotika vor. Aus diesen war ersichtlich, daß der Boden als unbelastet einzustufen war (mündl. Mitteilung Pestemer 1999), was eine grundlegende Voraussetzung für einen Biotestboden ist. Des weiteren war der Boden für die Abtrennung der Algen von den Bodenpartikeln optimal geeignet, da nur ein geringer Bodenanteil im Filter verblieb.

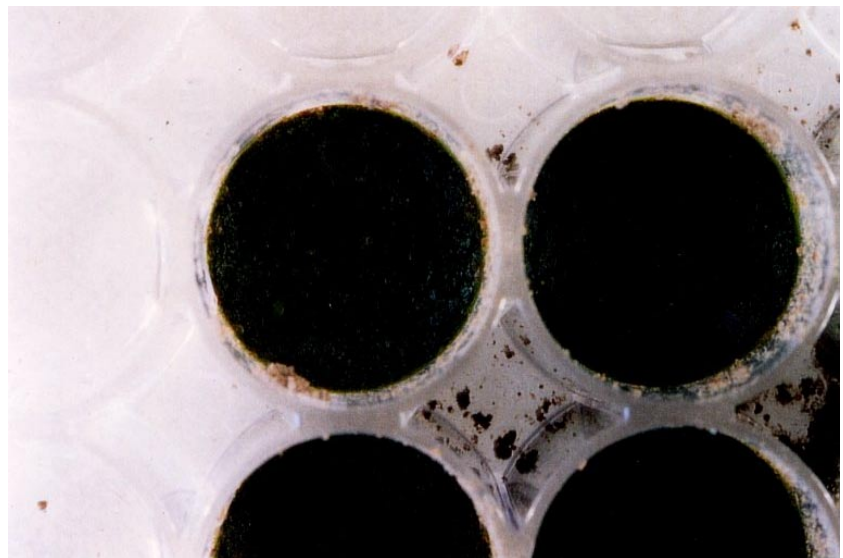
Dieser Boden wurde im Boden-Biotest zwar nicht sterilisiert, doch nach DIN 19 683 Teil 4 getrocknet. Bei diesem Verfahren bleiben organische Substanz (Hoffmann 1991) wie auch Tonminerale erhalten (mündl. Mitteilung Traulsen 1999; DIN 19 684 Teil 4). Andererseits ist der natürliche Algenbestand des Bodens nicht mehr vorhanden, und das Pilzwachstum in den Böden wird ebenfalls fast völlig reduziert. Bei der Auszählung der Algen war allerdings deutlich zu erkennen, daß verschiedene Bakterienarten die Erhitzung des Bodens überstanden. Man kann bei dem Versuchsboden nicht von einem natürlichen, aber doch von einem natur-nahen Boden sprechen. Es wurden die sorbierenden Eigenschaften des Bodens durch das Trocknungsverfahren kaum verändert und die Mikroorganismengemeinschaft des Bodens

Fototafel 5

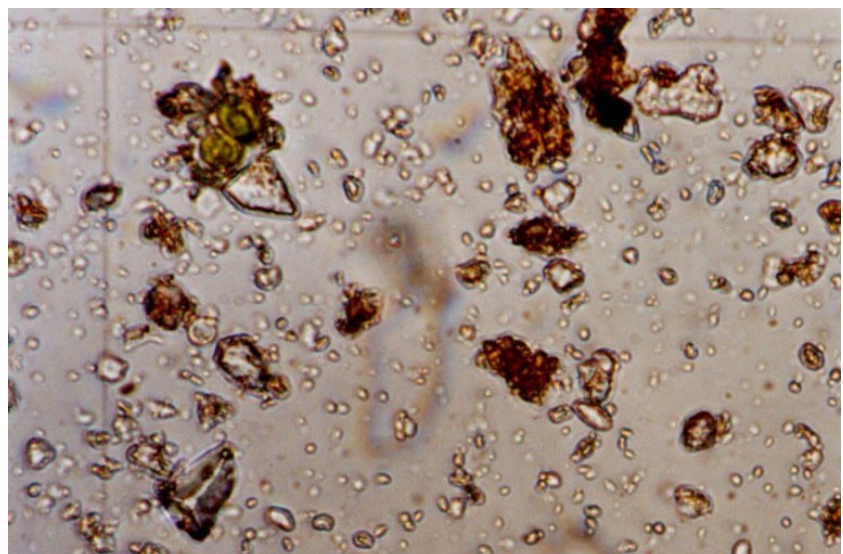
**Bild 1: Mikrotiterplat-
tenausschnitt des Boden-
Biotests nach 96 h, von
links nach rechts Zunahme
der Isoproturonkonzentra-
tion.**



**Bild 2: Ausschnittsver-
größerung der Mikroti-
terplatte.**



**Bild 3: Bodensuspension
mit *Chlamydomonas noc-
tigama* in der Neubauer-
Zellzählkammer, wie sie
nach dem Durchlauf durch
den Goldfilter im Mikro-
skop zu sehen ist; Ver-
größerung 400fach; zwei
Zellen am oberen Bildrand.**



blieb teilweise erhalten. Ein weiterer Vorteil dieser Methode war, daß größere Bodenbewohner wie Insekten etc., die zu einer Zerstörung der gleichmäßigen Bodenoberfläche führen könnten, abgetötet wurden. Eine Zerstörung der glatten Bodenoberfläche in den Kavitäten hätte zu unterschiedlichen Wuchsbedingungen der Algen geführt (s. Fototafel 5, Bild 1 und 2, S. 79).

Um den Einsatz der Neubauer-Zellzählkammer zu ermöglichen und störende größere Partikel aus der Erdsuspension zu entfernen sowie gleichzeitig eine Abtrennung der Algen von größeren Bodenpartikeln zu erreichen, kam die Goldfiltermethode von Stellmacher (1993) zum Einsatz. Bei diesem Verfahren wurde die Erdsuspension mehrmals durch einen Kaffeedauerfilter gegeben, und beim Durchfließen der relativ engen Schlitze wurde der größte Teil der Algen von größeren Erdpartikeln gelöst. Vorherige Homogenisierungsschritte mittels Überkopfschütteln unterstützten die Abtrennung der Algen von größeren Erdpartikeln. Je nach Boden konnten somit 70 % bis 90 % bzw. nach Stellmacher (1993) nahezu 100 % der Algen von größeren Bodenpartikeln gelöst werden und in der verdünnten Erdsuspension mit Hilfe der Neubauer-Zellzählkammer ausgezählt werden. Da der ausgewählte Boden einen geringen organischen Substanzanteil aufwies, war der im Goldfilter verbleibende Bodenanteil gering, so daß eine gute Abtrennung und Ausspülung der Algen aus dem Boden gegeben war. Diese würde bei Böden mit einem höheren organischen Substanzgehalt etwas geringer sein.

Auf die Anwendung einer fluoreszenzmikroskopischen Auszählung der Algen im Filtrat wurde verzichtet, da die vier ausgewählten Algen sich deutlich von den feinen Bodenpartikeln der gefilterten Bodensuspension bei normaler Hellfeldbeleuchtung oder Nutzung der Phasenkontrasteinrichtung bei Vergrößerung um das 100- bis 400fache auszählen ließen (s. Fototafel 5, Bild 3, S. 79).

Allerdings konnten die Algen *Stichococcus bacillaris* und *Klebsormidium flaccidum* vom Gel-Biotest nicht im Boden-Biotest eingesetzt werden, da bei *Stichococcus* die geringe Zellgröße und stäbchenartige Form sich nur unzureichend von den Bodenpartikeln unterschied und das feste fädige Wachstum von *Klebsormidium* nicht zur Auswertung mit der Neubauer-Zellzählkammer geeignet war.

Die Bestimmung der Algendichte in der gefilterten Erdsuspension mittels Chlorophyll-extraktion war nicht möglich, da dazu das Wachstum innerhalb von vier Tagen keine ausreichenden Algendichten ergab. Ebenso war eine an sich effektivere Auszählung der Algendichte mittels Culture-Counter-Gerät nicht möglich, da dieses Gerät nicht in der Lage ist, alle kleineren Bodenpartikel von den Algen zu differenzieren. Die relativ zeitaufwendige Auszählung der Zellen könnte durch ein Bildanalysesystem, daß an ein Mikroskop über Videokamera angeschlossen ist, beschleunigt werden. Da derartige Einrichtungen zur Zeit sehr teuer sind und nur in wenigen Laboren zu Verfügung stehen, wurde die Auswertung mit der klassischen Zählkammermethode vorgenommen.

Ein wesentlicher Unterschied des hier entwickelten Boden-Biotests war der Einsatz von vier Algenarten als Testorganismen gegenüber den Arbeiten von Aktins und Tchan (1967), Helling et al. (1971), Lefebvre-Drouet und Calvet (1983), Yanase et al. (1993) und Hammel

et al. (1998), die nur eine Alge, häufig aus der Gattung *Chlorella*, als Biotestorganismus einsetzen.

Daß die Beschränkung auf eine Algenart als stellvertretender Testorganismus zur Ermittlung der ungefähren Empfindlichkeit gegenüber Teststoffen für die gesamte Gruppe der Bodenalgen unzureichend ist, wird durch die Untersuchungen von Cullimore und McCann (1977) deutlich. Sie ermittelten für 31 Algenarten, die in landwirtschaftlich genutzten Böden wuchsen, die Sensibilität gegenüber vier Herbiziden und stellten insbesondere für die Gattungen *Chlorella*, *Lyngbya*, *Nostoc* und *Hantzschia* fest, daß diese die geringste Sensibilität gegenüber den Herbiziden aufwiesen. Dagegen hatten die Gattungen *Chlamydomonas*, *Chlorococcum*, *Hormidium*, *Palmella* und *Ulothrix* die höchsten Sensibilitäten. Dieses Ergebnis ist wesentlich, da einige der oben genannten Biotests, wie von Aktins und Tchan (1967), Helling et al. (1971), Lefebvre-Drouet und Calvet (1983) und Yanase et al. (1993), mit Arten aus der Gattung *Chlorella* als Testorganismen durchgeführt wurden. In Böden, die mit vier Herbiziden bearbeitet wurden, trat eine fast völlige Hemmung des Wachstums von *Chlamydomonas*-Arten auf. *Stichococcus*-Arten kamen nur noch zu 30 % bis 40 % vor, dagegen *Chlorella*-Arten noch zu 70 % bis 80 % (Cullimore & McCann 1977). Dies zeigt die geringe Sensibilität von *Chlorella*-Arten und macht deutlich, daß Aussagen, wie bei Aktins und Tchan (1967) über die geringere Sensibilität des Algenbiotests auf Atrazin im Vergleich z. B. zum Hafer-Wuchs-Test, der etwas empfindlicher auf Atrazin reagiert, nicht auf Biotests mit anderen Algenarten übertragen werden können. Aktins und Tchan (1967) arbeiteten nur mit *Chlorella pyrenoidosa*. Zusätzlich kamen Lefebvre-Drouet und Calvet (1983) gut eineinhalb Jahrzehnte später beim Vergleich zwischen einem Biotest mit *Chlorella pyrenoidosa* und dem Hafer-Wuchs-Test zu dem Schluß, daß beide Methoden für Atrazin zu Ergebnissen ähnlicher Größenordnung führen. Allerdings handelte es sich hier um einen anderen Biotestaufbau für die Alge als bei Aktins und Tchan (1967). Dies zeigt unter anderem den Einfluß eines unterschiedlichen Testdesigns auf die Sensibilität eines Testorganismus.

4.5.2 Standardisierung des Boden-Biotests

Wie Abb. 8 (s. S. 54) für die Reduktion des Algenwachstums durch Isoproturon zeigt, war beim Boden-Biotest innerhalb von vier Tagen die Messung der Wachstumssteigerungen verschiedener Algen in einem naturnahen Boden möglich. Somit konnten die verschiedenen toxikologischen Kennwerte gegenüber Teststoffen ermittelt werden. Durch die viermalige mikroskopische Bestimmung der Zelldichte (s. Tab. A18.1 bis A18.12, S. 138 bis 142) einer Erdsuspension und die dreimalige Versuchswiederholung konnten für Biotests relativ niedrige Variationskoeffizienten für alle Algen von 5 % bis 15 % und bei *Xanthonema tribonematoides* aufgrund der größeren Zellen von ca. 25 % erzielt werden.

Aufgrund der zeitlich relativ aufwendigen Auswertung mit Hilfe des Mikroskopes und der Neubauer-Zellzählkammer konnten innerhalb eines Versuchsdurchgangs keine Parallelen angesetzt werden. Aus diesem Grund muß der Boden-Biotest mindestens drei- bzw. viermal

wiederholt werden, damit die Bestimmung reproduzierbarer toxikologischer Kenndaten möglich ist.

4.5.3 Toxikologische Kennwerte für Cadmium und Isoproturon im Boden-Biotest

Bis zu einer Cadmiumkonzentration von 8,0 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch konnte im Boden-Biotest keine hemmende Wirkung auf das Algenwachstum festgestellt werden. Dementsprechend hätte zur Bestimmung des EC₁₀- und EC₅₀-Wertes der Algen die Cadmiumchloridkonzentration gegenüber dem Gel-Biotest um ein Vielfaches erhöht werden müssen. Da es ein Ziel der Untersuchung war herauszufinden, ob Bodenalgae empfindlich auf Cadmium im Boden reagieren und eine Konzentration von 8,0 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch weit über den Grenz- und Maßnahmenwerten (s. Kap. 4.2.1, S. 59) liegt bzw. nach Koch (1991) ab 1,0 mg/kg TS Boden ein Boden nicht mehr als unbelastet bezeichnet werden kann, wurde der Versuch nicht mit höheren Konzentrationen durchgeführt.

Zahlreiche Untersuchungen, von denen hier nur einige wenige genannt werden, beschäftigen sich mit Cadmiumkontaminationen im Boden und deren Einfluß auf verschiedenste Bodenorganismengruppen. Für Bakterien gibt es Untersuchungen, die den Einfluß von Cadmium auf die unterschiedlichen bakteriellen Stoffwechselaktivitäten anhand der Kohlendioxid-Produktion (Chang & Broadbent 1981), der Stickstoff-Mineralisation (Liang & Tiabatabai 1977), des Fe(III)-Reduktionstests (Welp & Brümmer 1988), der Arginin-Ammonifikation und Dehydrogenaseaktivität (Wilke 1991) und der mikrobiellen Biomasse (Frostegard et al. 1993) ermitteln. Untersuchungen über einzelne Bodenbakterienarten und deren Sensibilität gegenüber Cadmium gibt es kaum. Ebenfalls berechnen wenige Untersuchungen EC-Werte, sondern geben nur die prozentuale Hemmung gegenüber der Kontrolle an. Wilke (1991) stellt für 19 verschiedene Böden, die mit einer hohen Cadmiumkonzentration von 200 mg/kg TS Boden belastet wurden, die prozentuale Hemmung der Arginin-Ammonifikation und Dehydrogenaseaktivität nach 70 Tagen fest. In Tab. 17 (s. S. 83) sind die Ergebnisse von zwei Böden dargestellt, von denen einer mit einer organischen Substanz von 1,8 % derjenigen des Testbodens im Bodenalgae-Biotest entsprach. Deutlich wird, daß erst sehr hohe Cadmiumgesamtgehalte zu einer Reduktion der bakteriellen Aktivitäten im Boden führen. Ebenso zeigen die Untersuchungen mit *Eisenia fetida*, *Folsomia candida* und drei höheren Pflanzenarten (Tab. 17), daß bei diesen verschiedenen Organismengruppen ebenfalls eine sehr geringe Sensibilität gegenüber Cadmium im Boden besteht. Pestemer et al. (1988) stellen für 15 Testpflanzen fest, daß erst bei einer Cadmiumchloridkonzentration von über 100 bis 1 000 mg/kg TS Boden der EC₅₀-Wert erreicht oder überschritten ist.

Die Toleranz der Algen im Boden-Biotest, die auch durch die Ergebnisse des Schwermetallversuches bestätigt wird (s. Kap. 4.2.2, S. 60 bis 61), und die hohe Toleranz anderer Bodenorganismen in Böden gegenüber Cadmium läßt sich mit den Sorptionsprozessen in Böden erklären.

Tab. 17: EC₅₀-Werte für Cadmiumchlorid mit unterschiedlichen Boden-Biotests, Cadmium in mg/kg TS Boden angegeben

Testorganismus	Test-substrat	Organische Substanz in %	Zeit in Tagen	EC ₅₀ -Werte in mg/kg TS Boden	Literatur
Algen <i>Scenedesmus subspicatus</i>	naturnaher Boden	1,8	4	> 10	vorliegende Studie
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	naturnaher Boden	1,8	4	> 10	vorliegende Studie
<i>Xanthonema montanum</i>	naturnaher Boden	1,8	4	> 10	vorliegende Studie
<i>Chlamydomonas noctigama</i>	naturnaher Boden	1,8	4	> 10	vorliegende Studie
Bodenmikroorganismen¹⁾					
Arginin-Ammonifikation	natürlicher Boden	1,8	70	bei 200 mg Cd/kg n. b. ¹⁾	Wilke 1991
Arginin-Ammonifikation	natürlicher Boden	3,6	70	bei 200 mg Cd/kg 82 % ¹⁾	Wilke 1991
Dehydrogenaseaktivität	natürlicher Boden	1,8	70	bei 200 mg Cd/kg 13 % ¹⁾	Wilke 1991
Dehydrogenaseaktivität	natürlicher Boden	3,6	70	bei 200 mg Cd/kg 54 % ¹⁾	Wilke 1991
Regenwurm <i>Eisenia fetida</i>	Artificial soil ²⁾	20	21	215	Spurgeon & Hopkin 1995
Collembolen (Springschwänze) <i>Folsomia candida</i> ³⁾	Artificial soil ²⁾	20	28	590	Sandifer & Hopkin 1996
Pflanzen <i>Brassica rapa</i> (Herbstrübe)	natürlicher Boden ⁴⁾	1,5	14	> 100	Pestemer et al. 1988
<i>Lepidium sativum</i> (Gartenkresse)	natürlicher Boden ⁴⁾	1,5	14	> 100	Pestemer et al. 1988
<i>Trifolium pratense</i> (Rotklee)	natürlicher Boden ⁴⁾	1,5	14	> 100	Pestemer et al. 1988

¹⁾ Wilke (1991) untersuchte die Hemmung der Dehydrogenaseaktivität und Arginin-Ammonifikation in Böden, die mit einer Cadmiumkonzentration von 200 mg/kg TS Boden belastet wurden, und ermittelte die prozentuale Hemmung, n. b. (nicht bestimmbar).

²⁾ „Artificial soil“ ist ein künstlich hergestellter Boden aus 70 % Sand, 20 % Kaoline und 10 % organischer Substanz als *Sphagnum* Torf, Testparameter war die Wachstumsrate.

³⁾ Testparameter war die Reproduktion.

⁴⁾ Der Boden war ein lehmiger Sand, 1,5 % C_{org}, 1 % Ton, 26 % Schluff, 72 % Sand.

In den Bodenuntersuchungen des Schwermetallversuches wurde deutlich, daß bei Gesamtcadmiumgehalten von ungefähr 7 mg/kg TS Boden nur ungefähr 0,5 mg/kg TS Boden durch Calciumchlorid extrahierbar sind (s. Tab. A1 und A2, S. 113 bis 114). Auch bei diesen Konzentrationen handelt es sich nicht unbedingt um die für Algen bioverfügbaren Cadmiumkonzentrationen. Diese könnten noch geringer sein. Wilke (1991) ermittelte bei 19 Böden, die künstlich mit 200 mg/kg TS Boden Cadmiumchlorid belastet wurden, durch Untersuchung der Perfusionslösung, daß in allen Böden mehr als 99 % des Gesamtcadmiumgehaltes sorbiert und somit wahrscheinlich nicht mehr für die Organismen verfügbar waren.

Dies erklärt, warum nicht nur für Algen, sondern für zahlreiche Testorganismen in Boden-Biotests hohe Cadmiumkonzentrationen von über 10 mg/kg TS Boden noch keinen oder nur einen geringen Einfluß auf die Wachstumsraten der Organismen hatten (s. Tab. 17, s. S. 83).

Beim Vergleich der EC_{50} -Werte (s. Tab. 17) muß berücksichtigt werden, daß die Biotests in zahlreichen Versuchsparametern (z. B. Kulturbedingungen) voneinander abwichen und unterschiedliche Böden und bodenähnliche Substrate nutzten. Damit muß auch von einer unterschiedlichen Bioverfügbarkeit des Cadmiums in den Biotests ausgegangen werden. Welp und Brümmer (1988) stellten fest, daß bei einem höheren Gehalt an organischer Substanz des Bodens meistens die Toxizität von verschiedenen Xenobiotika, wie z. B. Cadmium oder Atrazin, im Boden gegenüber Organismen sinkt. Berger und Heitefuss (1991) konnten nachweisen, daß in Sandböden Herbizideffekte deutlicher ausgeprägt waren als in Lehm Böden. Allgemein wird die Sorption von Xenobiotika überwiegend durch die Adsorption an die organische Substanz und an Tonminerale bestimmt, wobei den wichtigsten Einfluß die organische Substanz ausübt (Hock et al. 1995).

Für Isoproturon weisen die EC_{10} - und EC_{50} -Werte (Tab. 13, s. S. 55) aller Algen eine ähnliche Sensibilität auf. Wie die bereits diskutierten Ergebnisse des Gel-Biotests und die Ergebnisse des Boden-Biotests deutlich machen, haben Unterschiede in der Zellmorphologie, Vermehrungsart und besonders auch das unterschiedliche Verhältnis von Zelloberfläche zum Zellinneren keine erkennbare Auswirkung auf die Sensibilität der Algen. Die untersuchten Bodenalgae und *Scenedesmus subspicatus* weisen mit einem durchschnittlichen EC_{50} -Wert von 0,5 mg/l OECD-Mediumbodengemisch eine hohe Sensibilität gegenüber Isoproturon auf. Rechnet man diesen Wert auf Trockensubstanz Boden um, so beträgt er 0,63 mg/kg TS Boden.

Reese-Stähler et al. (1999) stellten bei einer praxisüblichen Aufwandmenge für Isoproturon (1,5 kg/ha in Form von 3 l Fenikan, Isoproturon-Anteil 500 g/l und Diflufenican-Anteil 62,5 g/l) eine Stunde nach Applikation in den genommenen Bodenproben (Tiefe: 0 cm bis 5 cm) eine Isoproturonkonzentration von 1,6 mg/kg TS Boden fest. Dieser Wert lag nach 13 Tagen noch bei ca. 0,7 mg/kg TS Boden. Parallel dazu wurde mit dem Modul ANPROG aus dem Expertensystem PEMOSYS (Pestemer & Günther 1997) eine Simulation des Abbaus von Isoproturon durchgeführt, das aber im Vergleich zu den gemessenen Werten den Abbau unterschätzte. Diese Unterschätzung entstand dadurch, daß das Simulationsmodell ANPROG den Abbau in der 0 cm bis 10 cm Bodenschicht simuliert, in der genannten Studie aber nur die oberen 5 cm untersucht wurden. Ausgehend von den gemessenen Isoproturonkonzentrationen im Boden und dem in vorliegender Untersuchung ermittelten EC_{50} -Wert für Algen von

0,63 mg/kg TS Boden, ist es sehr wahrscheinlich, daß ein Großteil der Algen in den ersten Tagen in ihrem Wachstum gehemmt bzw. abgetötet wurden. Diese Vermutung ist der Einschränkung unterworfen, daß die organische Substanz des Bodens aus der Untersuchung von Reese-Stähler et al. (1999) mit durchschnittlich 3 % und der Tongehalt mit 14 % höher als im Boden des Boden-Biotests mit 1,8 % organischer Substanz und 9,6 % Ton lag. Der Schluffanteil war in beiden Böden 38 %.

Neuhaus (1999) konnte in den von Reese-Stähler et al. (1999) analysierten sandigen Lehm Böden eine deutliche Reduktion der Gesamtalgendichte von 20 % bis 38 % ermitteln. Für die Kieselalge *Navicula* spec. zeigte sich noch eine 88%ige Reduktion gegenüber der Kontrolle 118 Tage nach Applikation. *Xanthonema* spec. wies 13 Tage nach Applikation eine 40%ige Reduktion auf, die über mehrere Monate anhielt. Damit waren diese beiden Algenarten deutlich empfindlicher gegenüber dem Herbizid Fenikan als die Gesamtalgendichte. Aus diesen Untersuchungen schloß Neuhaus (1999), daß Bodenalgae als empfindliche Indikatoren für bestimmte Herbizide einzustufen sind. In vorherigen Freilanduntersuchungen hatte Neuhaus (1994) bei einer Applikation von 3 l Arelon je Hektar (1,5 kg Isoproturon je Hektar) festgestellt, daß die Gesamtbodenalgendichte in einem lehmigen Sand mit einer organischen Substanz von ca. 1,8 % 8 Wochen nach Applikation noch um ca. 75 % gegenüber dem Kontrollboden reduziert war.

In Tab. 18 (s. S. 86) sind die EC_{50} -Werte aus Boden-Biotests mit verschiedenen Bodenorganismen für Isoproturon aufgeführt. Wie beim Cadmiumchlorid können für die mikrobiologischen Untersuchungen und für die Biotests mit höheren Pflanzen keine EC_{50} -Werte aus der Literatur angegeben werden, sondern nur die prozentuale Hemmung der Aktivitäten gegenüber der Kontrolle für ausgewählte Konzentrationen. Um die Ergebnisse des Boden-Biotests, in dem sich die Werte auf mg/kg OECD-Mediumbodengemisch beziehen, mit den Angaben der Aufwandmengen für Isoproturon auf einen Hektar vergleichen zu können, wurde die Aufwandmenge je Hektar unter der Annahme einer Lagerungsdichte (bzw. des Raumgewichtes) von ungefähr 1 g/cm^3 auf mg/kg Boden (Tiefe: 10 cm) umgerechnet.

Die dargestellten Ergebnisse aus dem Wirkstoffdatenblatt BBA (1993) ergeben, daß die untersuchte Bodenmikroflora in ihrer Aktivität nicht negativ beeinflusst wird. Domsch (1992) kam bei einer vergleichenden Literaturstudie ebenfalls zu der Einschätzung, daß nachhaltige Effekte auf die Mikroflora bei praxisüblicher Dosierung nicht zu erwarten sind. Demgegenüber haben Malkomes (1980), Mudd et al. (1985) und Berger und Heitefuss (1991) bei Freilanduntersuchungen mit Isoproturon bei praxisüblicher Dosierung eine Veränderung der Dehydrogenaseaktivität beobachtet. Malkomes (1980) hat bei einer Isoproturonausbringung von 1,5 kg/ha bzw. ca. 1,5 mg/kg Boden (Tiefe: 10 cm) in Feldversuchen und Gefäßversuchen mit Wintergerste eine Reduktion der Dehydrogenaseaktivität festgestellt. Mudd et al. (1985) haben bei einer Anwendung von 2,5 kg/ha Isoproturon bzw. ca. 2,5 mg/kg Boden (Tiefe: 10 cm) eine Veränderung in der Rhizosphäre von Winterweizen ermittelt und Zu- und Abnahmen der Keimzahlen von Bakterien und Pilzen.

Tab. 18: EC₅₀-Werte oder prozentuale Hemmungen gegenüber der Kontrolle für Isoproturon mit unterschiedlichen Boden-Biotests; EC₅₀- Werte in mg/kg OECD-Mediumbodengemisch

Testorganismus	Testsubstrat	Zeit in Tagen	EC ₅₀ - Werte bzw. s. ²⁾	Literatur
Algen				
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	schluffiger Sand	4	0,35	vorliegende Studie
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	schluffiger Sand	4	0,21	vorliegende Studie
<i>Xanthonema montanum</i>	schluffiger Sand	4	0,92	vorliegende Studie
<i>Chlamydomonas noctigama</i>	schluffiger Sand	4	0,46	vorliegende Studie
Bodenmikroorganismen				
Stickstoffmineralisierung	schluffiger Sand ¹⁾	28	bei ca. 2,0 keine Hemmung ²⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
Stickstoffmineralisierung	toniger Lehm ¹⁾	28	bei ca. 2,0 keine Hemmung ²⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
Dehydrogenaseaktivität	schluffiger Sand ¹⁾	28	bei ca. 2,0 8 % ²⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
Dehydrogenaseaktivität	toniger Lehm ¹⁾	28	bei ca. 2,0 keine Hemmung ²⁾	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)
Pflanzen				
<i>Hordeum spec.</i> (Wintergerste)	sandiger Lehm ³⁾	34	bei ca. 1,5 keine Hemmung der oberird. Pflanzenmasse, 50 % Hemmung der Wurzelmasse ²⁾	Malkomes (1980)
<i>Apera spica-venti</i> (Windhalm)	Sand ⁴⁾	4)	bei ca. 1,13 98 % Reduktion der Pflanzen ²⁾	Maykuhs (1982)
<i>Lolium spec.</i> (Weidelgras)	sandig toniger Lehm ⁵⁾	5)	bei ca. 1,5 100 % Reduktion der Pflanzen ²⁾	Gonzalez Ponce & Rodriguez (1983)
<i>Avena sterilis</i> (Wildhafer)	sandig toniger Lehm ⁵⁾	5)	bei ca. 1,5 90 % Reduktion der Pflanzen ²⁾	Gonzalez Ponce & Rodriguez (1983)
Regenwurm				
<i>Eisenia fetida</i>	artificial soil ⁶⁾	14	> 1000	Wirkstoffdatenblatt BBA (1993)

¹⁾ Laborversuch; nach den Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln (Anderson et al. 1990) hat der Sandboden eine org. Sub. von 1 % bis 2 % und der Lehm Boden von 2 % bis 6 %.

²⁾ Hemmung in Prozent gegenüber der Kontrolle bei genannter Konzentration in mg/kg Boden.

³⁾ Gefäßversuch; der Testboden hatte einen Anteil an org. Sub. von 5,6 %.

⁴⁾ Freilandversuch, Sandboden mit 2 % bis 3 % org. Sub., Versuchsdauer bis zur Ernte.

⁵⁾ Freilandversuch, sandig toniger Lehm Boden, keine Angabe der org. Sub., Versuchsdauer bis zur Ernte

⁶⁾ Laborversuch; „artificial soil“ ist ein künstlich hergestellter Boden aus 70 % Sand, 20 % Kaoline und 10 % organischer Substanz als *Sphagnum* Torf, Testparameter war die Wachstumsrate.

Sie schlossen aber aus den Ergebnissen, daß bei einer praxisüblichen Anwendung von ca. 1,5 kg/ha mit keiner schädlichen Wirkung auf Bodenmikroorganismen oder die Bodenfruchtbarkeit gerechnet werden muß. Berger und Heitefuss (1991) ermittelten in Feldversuchen eine Reduktion der Dehydrogenaseaktivität um 15 % bis 30 % bei einer Isoproturonkonzentration von ca. 1,5 kg/ha. Diese Hemmung konnten sie in Laborversuchen nicht mehr eindeutig nachweisen. Die Unterschiede zwischen Freiland- und Gefäßversuchen mit Pflanzen und Laboruntersuchungen ohne Pflanzen erklärten Berger und Heitefuss (1991) mit dem Einfluß des Isoproturons auf die gegenüber Photosynthesehemmern empfindlichen Algen und der fehlenden Rhizosphärenmikroflora in den Laborversuchen.

Während das Herbizid Isoproturon für die Anwendung in Kulturen mit Sommergerste, Sommerweizen und Wintergetreiden, ausgenommen Triticale, zugelassen ist (Wirkstoffdatenblatt BBA 1993) und dementsprechend bei praxisüblichen Aufwandmengen von 1,5 bis 2,0 kg/ha bzw. ca. 1,5 bis 2,0 mg/kg Boden (Tiefe: 10 cm) keine deutliche Schädigung hervorruft, reagieren die Algen deutlich sensibler als die genannten höheren Pflanzen. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, daß der Boden-Biotest mit Algen nur vier Tage dauert und nicht 14 Tage bis zu mehreren Wochen, wie bei den anderen Biotests (s. Tab. 18, S. 86).

Allerdings konnte Malkomes (1980) bei Wintergerste in Gefäßversuchen eine ca. 50%ige Reduktion der Wurzelmassen 34 Tage nach Behandlung mit 2 kg/ha Isoproturon bzw. ca. 2 mg/kg Boden (Tiefe 10 cm) feststellen. Die oberirdische Pflanzenmasse war aber nicht eindeutig geringer gegenüber der Kontrolle. Kees (1984) untersuchte die Kulturverträglichkeit verschiedener Herbizide in der Spätanwendung für Wintergerste unter unkrautfreien Bedingungen und stellte bei einer Isoproturonaufwandmenge von 2,0 kg/ha eine Korn-ertragsminderung von ca. 5 % fest. Angaben über Bodenparameter wurden nicht gemacht. Maykuhs (1982) konnte bei Versuchen zur Unkrautbekämpfung in Triticale in einem Sandboden (organische Substanz von 2 % bis 3 %) bei einer Arelonaufwandmenge von 1,5 kg/ha bzw. ca. 1,5 mg/kg Boden (Tiefe 10 cm) eine 98%ige Reduktion von *Apera spica-venti* (Windhalm) erreichen. Für *Stellaria media* (Vogelmiere), *Viola arvensis* (Feldstiefmütterchen) und *Veronica hederifolia* (Efeublättriger Ehrenpreis) wurde eine durchschnittlich 60%ige Reduktion ermittelt. Maykuhs (1982) gab für Arelon eine Isoproturonkonzentration von 75 % an. Gonzalez Ponce und Rodriguez Senas (1983) ermittelten in einem sandigen Lehm Boden (Schluff 18,0 %, Ton 13,9 % und Sand 68,1 %) eine nahezu 100%ige Reduktion von *Lolium spec.* (Weidelgräser) mit einer Isoproturonkonzentration von 1,5 kg/ha bzw. 1,5 mg/kg Boden (Tiefe 10 cm) und bei gleicher Aufwandmenge in einem sandig tonigen Lehm Boden (Schluff 23,7 %, Ton 22,4 % und Sand 53,9 %) eine ebenfalls 100%ige Reduktion von *Lolium spec.* und eine 90%ige Reduktion von *Avena sterilis* (Wildhafer). Eine Angabe über die organische Substanz in den Böden wurde nicht gemacht.

Da Isoproturon für die Bekämpfung von zweikeimblättrigen Unkräutern, Ackerfuchsschwanz, Windhalm und einjähriger Rispe, eingesetzt wird, sind diese Pflanzen natürlich empfindlich gegenüber der praxisüblichen Aufwandmenge. Aufnahmen und Wirkort von Isoproturon wurden in Kap. 4.4.4 (s. S. 70 bis 72) diskutiert. Die voneinander abweichenden Empfindlichkeiten zwischen den verschiedenen höheren Pflanzen sahen Pfister et al. (1979) und

McIntosh et al. (1981) in den unterschiedlichen Bindungsaffinitäten an die Thylakoidmembranen, die bei manchen Gräsern hoch ist und z. B. bei Weizen gering. Ein weiterer Grund für die verschiedenen Empfindlichkeiten war der unterschiedlich schnelle Abbau des Herbizids in den Pflanzen. Es könnte sein, daß Algen ebenfalls eine stärkere Bindung des Isoproturons an die Thylakoidmembran aufweisen oder das Isoproturon in den Algen langsamer abgebaut werden kann.

Der Regenwurm *Eisenia fetida* ist mit einem EC_{50} -Wert von über 1000 mg/kg „artificial soil“ gegenüber Isoproturon nahezu unempfindlich. Ebenso wie bei Cadmium muß auch bei Isoproturon die Sorption durch den Boden berücksichtigt werden, die den wahrscheinlich bioverfügbaren Herbizidanteil für die Algen entscheidend reduziert. Isoproturon besitzt eine Wasserlöslichkeit von 65 g/l Wasser (Perkow & Ploss 1992) und einen Adsorptionskennwert K_{oc} von ca. 100 (Nicholls 1994) und ist damit nach einer Klassifizierung von Kenaga (1980) zur Bodenmobilität von Herbiziden ein mobiles Pflanzenschutzmittel. Der K_{oc} -Wert ist ein Adsorptionskoeffizient, der sich auf die organische Substanz bezieht. Er wird bestimmt, indem der Adsorptionskoeffizient (K_D) mal 100 genommen und dann durch die organische Substanz in Prozent geteilt wird. Beim K_D -Wert handelt es sich um den Adsorptionskoeffizienten, der das im Gleichgewichtszustand eingestellte Verhältnis zwischen der Konzentration des an den Boden adsorbierten Herbizids (C_a) und der Konzentration in der Bodenlösung (C_e) angibt. Der Dampfdruck von Isoproturon beträgt 3,3 mPa bei 20 °C, und die Halbwertszeit (DT_{50} -Wert) im Boden liegt nach Angaben der Firma Rhone-Poulenc Agro bei 12 bis 32 Tagen (Perkow & Ploss 1992). Damit kann für den Boden-Biotest mit Algen davon ausgegangen werden, daß das Isoproturon sich in dem Versuchszeitraum von 96 h nur geringfügig reduziert. Die Halbwertszeit wird hier auch noch größer sein, da der Boden durch die Erhitzung beim Trocknen auf 105 °C nur noch eine eingeschränkte mikrobiologische Aktivität hat. Mandal (1986) konnte für sterilisierte Böden einen Anstieg der Halbwertszeit von Isoproturon auf 75 Tage gegenüber nicht sterilisierten Böden mit ca. 30 Tagen feststellen. Eine Reduzierung des Isoproturongehaltes durch Verflüchtigung kann fast völlig ausgeschlossen werden. Maas et al. (1988) stellten in einem Laborversuch eine 3%ige Verflüchtigung von Isoproturon nach 12 h von einem schwachsorptiven lehmigen Sandboden fest.

Es liegen zahlreiche Publikationen, z. B. von Gaillardien (1997) und Pantani et al. (1997) zu tonigen Lehm Böden, Perrin-Ganier et al. (1996) zu einem tonigen Schluffboden, Reese-Stähler et al. (1999) zu einem sandigen Lehm Boden, Berger und Heitefuss (1990) und Cox und Walker (1999) zu verschiedenen Böden, vor, die sich mit der Adsorption von Isoproturon im Boden beschäftigen. In den Untersuchungen von Reese-Stähler et al. (1999) zeigte sich, daß die wasserextrahierbaren und damit nach Stalder und Pestemer (1980) potentiell pflanzenverfügbaren Isoproturonanteile in den ersten 13 Tagen nach Applikation 40 % bis 50 % betrugen. Dieser Anteil reduzierte sich aber nach 40 Tagen auf ungefähr 20 %. Berger und Heitefuss (1990) ermittelten für Isoproturon bei einem tonigen Schluffboden mit 1,8 % organischer Substanz, 18,8 % Ton und 73,4 % Schluff direkt nach Ausbringung von 1,5 kg/ha einen wasserextrahierbaren Anteil von ca. 50 %, der nach 21 Tagen nur noch bei ca. 30 % lag. Zu ähnlichen Ergebnissen des wasserextrahierbaren Anteils von 58,1 % direkt nach Isoproturonausbringung von 1,8 kg/ha und 9,25 % nach 45 Tagen kamen Perrin-Ganier et al.

(1996) für einen Boden mit Gehalten von 2,6 % organischer Substanz, 26,1 % Ton und 49,7 % Schluff. Da die Sorption von Pflanzenschutzmitteln überwiegend durch den Gehalt der organischen Substanz und teilweise durch den Tongehalt im Boden bestimmt wird (Hock et al. 1995 und Meyer-Windel et al. 1997) und diese bei Berger et al. (1990), Perrin-Ganier et al. (1996) und Reese-Stähler et al. (1999) zwischen 1,8 % bis 3 % organischer Substanz und 14 % bis 26,1 % Ton lagen, gegenüber 1,8 % organischer Substanz und 9,6 % Ton im Boden-Biotest, kann für diesen Boden von einem etwas höheren im Wasser gelösten Anteil von ca. 65 % direkt nach Isoproturonzugabe ausgegangen werden. Er wird sich in den ersten 4 Tagen nur um wenige Prozent verringert haben. Dieser Anteil und eventuell auch der an den Boden sorbierte Anteil (s. Kap. 4.6, S. 89 bis 91) könnte die in Tab. 13 (s. S. 55) aufgeführte Reduktion des Algenwachstums bewirken.

Es wird ähnlich wie beim Gel-Biotest (s. Tab. 16, S. 74) deutlich, daß Algen als photosynthesebetreibende Organismen zu den empfindlichsten Testorganismen gegenüber Photosynthesehemmern gehören. Pipe (1992) wies ebenfalls auf die hohe Empfindlichkeit von Algen auf Herbizide hin, insbesondere für die, die in das Photosynthesystem eingreifen. Besonders interessant ist die höhere Empfindlichkeit einiger Algen gegenüber Herbiziden im Vergleich zu einigen Pflanzen. Dies läßt den relativ einfachen und in wenigen Tagen durchführbaren Boden-Biotest mit Algen, der ein Test mit eukaryontischen Pflanzenzellen ist, als einen geeigneten Vortest in der Beurteilung insbesondere von Pflanzenschutzmitteln in Erwägung ziehen. Er könnte vor den intensiveren Untersuchungen mit Pflanzenbiotests durchgeführt werden und diese ergänzen. Letztlich werden aber Algentests Pflanzentests nicht ersetzen können, da Pflanzentests weitere Informationen über die Aufnahme des Pflanzenschutzmittels über die Wurzeln aus tieferen Bodenschichten und Verteilung des Mittels in der Pflanze liefern. In Deutschland werden Algenbiotests schon zur Beurteilung von Pflanzenschutzmitteln eingesetzt und einige Herbizide sind auch als algentoxisch (Kennzeichen NW 262) eingestuft worden, wie z. B. neben Isoproturon auch Amitrol, Linuron und Paraquat. Eine ausführliche Auflistung geben Hock et al. (1995). Allerdings bezieht sich die ermittelte Algentoxizität immer nur auf den DIN-Algentest mit der Süßwasseralgenart *Scenedesmus subspicatus* oder *Selenastrum capricornutum* in einem Flüssigmedium und eben nicht auf Bodenalgen in einem Boden.

4.6 Vergleich der Ergebnisse vom Gel-Biotest und Boden-Biotest

Der Vergleich der EC_{50} -Werte (s. Tab. 14, S. 55), die im Gel-Biotest und Boden-Biotest gewonnen wurden, zeigt, daß Cadmium im wasserähnlichen Flüssigmedium für Algen ab Konzentrationen von 0,3 mg/l bis 6,0 mg/l deutlich toxisch ist, aber im naturnahen Boden des Boden-Biotests bei Konzentrationen von 8,0 mg/kg TS Boden keine toxische Wirkung auf Algen zu erkennen ist. Deutlich wird der große Unterschied zwischen Gel-Biotest und Boden-Biotest. Im Schwermetallversuch im Freiland konnte sogar bei einem Cadmiumgesamtgehalt von 180 mg/kg TS Boden keine Reduzierung, sondern sogar ein verstärktes Algenwachstum der Gesamtalgenpopulation festgestellt werden. Laborexperimente und Feldversuche belegen

die eher geringe Sensibilität von Algen gegenüber Cadmium, bis auf die zwei Ausnahmen im Gel-Biotest *Scenedesmus* und *Klebsormidium*.

Es läßt sich eindeutig belegen, daß beim Cadmium im Boden-Biotest die toxische Wirkung auf Algen drastisch gegenüber dem Gel-Biotest abnimmt. Ein großer Anteil des Cadmiums im Boden wird sorbiert und der bioverfügbare Gehalt im Boden stark verringert.

Erstaunlich ist im Vergleich mit den Ergebnissen des Schwermetallversuches, daß sogar in Böden mit einem calciumchloridlöslichen Cadmiumgehalt von bis zu ungefähr 20 mg/kg TS Boden keine Hemmung des Algenwachstums auftritt, obwohl im Gel-Biotest spätestens ab ca. 6 mg/l (s. Tab. 12, S. 53) eine deutliche Hemmung des Wachstums der sechs Testalgen meßbar ist. Es ist davon auszugehen, daß der calciumchloridlösliche Anteil höher ist als die für die Algen bioverfügbaren Schwermetallgehalte.

Aus diesen mit dem hier entwickelten Biotestsystem gewonnenen Ergebnissen kann jedoch nicht geschlossen werden, daß Cadmium ein unbedenkliches Schwermetall ist und kaum in Pflanzen aufgenommen wird. Untersuchungen z. B. von Salt (1988) zeigen, daß Cadmium in höheren Pflanzen, besonders in den Speicher- und Sproßorganen, angereichert wird und damit cadmiumbelastete Böden letztlich eine Gefahr für zahlreiche Organismengruppen bis zum Menschen darstellen. Hier zeigt sich die Wichtigkeit, die Bewertung eines Stoffes nicht nur mit einem Biotest vorzunehmen, sondern mit verschiedenen Testsystemen, analytischen Untersuchungsmethoden und Freilandversuchen. Die Fülle dieser Untersuchungen führte in Europa dazu, daß man anorganische Herbizide, wie z. B. Arsenverbindungen, oder Quecksilberverbindungen als Fungizide und andere schwermetallhaltige Pflanzenschutzmittel kaum mehr benutzt und für einen Großteil dieser Mittel ein Anwendungsverbot erlassen wurde (Hock et al. 1995).

Der Vergleich der Ergebnisse für Isoproturon zwischen Gel-Biotest und Boden-Biotest zeigt, daß die Ergebnisse des Gel-Biotests, unter Berücksichtigung der Konfidenzintervalle, sich kaum von denen des Boden-Biotests unterscheiden. Das läßt sich teilweise damit erklären, daß Isoproturon ein sorptionsschwacher Wirkstoff ist, der gut in Wasser löslich und im Boden relativ mobil ist. Durch den Vergleich (s. Kap. 4.5.3, S. 88 bis 89) mit Böden aus Untersuchungen von Hock et al. (1995), Meyer-Windel et al. (1997), Berger et al. (1990), Perrin-Ganier et al. (1996) und Reese-Stähler et al. (1999), die ähnliche Bodenparameter wie der Boden des Boden-Biotests aufwiesen, kann die Vermutung abgeleitet werden, daß ein Isoproturon-Anteil von 65 % mit Wasser extrahierbar und damit für die Organismen im Boden-Biotest verfügbar ist. Somit werden die Algen über die Bodenlösung im Boden-Biotest einem Großteil des Isoproturongesamtgehaltes ausgesetzt sein. Allerdings müßte der Isoproturonanteil, der für die Organismen verfügbar ist, um 35 % geringer sein als im Gel-Biotest. Dieser Anteil müßte im Boden adsorbiert und nicht bioverfügbar sein.

Trotz dieses wahrscheinlich adsorbierten Isoproturonanteils sind die toxikologischen Kennwerte für Isoproturon des Gel-Biotests nahezu identisch mit denen des Boden-Biotests (s. Tab. 12 bis 14, S. 53 bis 55). Untersuchungen, die Bakterien als Testorganismen einsetzten, führten zu ähnlichen Ergebnissen. So konnten Rönnpagel et al. (1995) nachweisen, daß in Biotests mit Böden und synthetischen Sedimenten, die z. B. mit Kupfer belastet

wurden, die Sensibilität von *Bacillus cereus* sogar größer war als in aquatischen Biotests. Untersuchungen mit *Arthrobacter globiformis* (Rönnpapel et al. 1998) führten zu ähnlichen Ergebnissen. Ebenso stellte Ahlf (1995) für Sedimente fest, daß neben den mit Wasser extrahierbaren Schadstoffkonzentrationen auch sorbierte Schadstoffe einen Einfluß auf Organismen haben können. Es gibt verschiedene Ansätze, diese Phänomene zu erklären.

Ahlf (1995) stellt für die Kontaminationsmöglichkeiten von Organismen in belasteten Sedimenten fest, daß diese besonders auf das Porenwasser, aber auch auf die Aufnahme von organischem Detritus zurückgeführt werden können. Insbesondere bei der Sedimentingestion und Verdauung des Detritus unter veränderten pH-Bedingungen können partikulärgebundene Schadstoffe wieder bioverfügbar und für den Organismus toxisch werden. Allerdings ist es schwierig, diese Erkenntnisse, die in aquatischen Tests mit Sedimenten und/oder mit anderen Organismengruppen gewonnen wurden, einfach auf Böden und Bodenalgae zu übertragen. Für die untersuchten Algen kann eine Aufnahme von Detritus oder Bakterien, wie sie z. B. bei Oligochaeten oder Protozoen vorkommt, ausgeschlossen werden.

Trotzdem besteht die Möglichkeit, daß Bodenalgae als Organismen, die einen engen Kontakt zu Bodenpartikeln haben, durch sorbierte Pflanzenschutzmittelanteile in ihrem Wachstum beeinflusst werden können, indem z. B. die für viele Algen üblichen Schleimhüllen die Verfügbarkeit von sorbierten Schadstoffen ermöglichen.

In verschiedenen Publikationen, wie z. B. von Günther und Pestemer (1990), Hock (1995) und Fent (1998), wird darauf hingewiesen, daß fast ausschließlich die bioverfügbaren Schadstoffe einen Einfluß auf das Wachstum von Organismen haben. Der Einfluß von sorbierten Schadstoffen wird ausgeschlossen oder als gering eingeschätzt. Allerdings wird immer wieder diskutiert, was unter dem Begriff „Bioverfügbarkeit“ grundsätzlich zu verstehen ist (Alef 1994, Rönnpapel et al. 1995 und Fent 1998) und welche Methoden oder Extraktionsmittel notwendig sind, um die bioverfügbaren Anteile eines Stoffes annäherungsweise festzustellen (Debus & Hund 1995).

Somit kann kein abschließendes Urteil gefällt werden, ob die Algen auch durch den sorbierten oder nur durch den bioverfügbaren Isoproturon-Anteil in ihrem Wachstum gehemmt werden.

Schließt man eine Beeinflussung der Algen durch den sorbierten Isoproturonanteil innerhalb der 96 h aus, so besteht eine weitere Erklärungsmöglichkeit für das vorliegende Ergebnis darin, daß die Bodenalgae beim Ansetzen des Versuches mit der gesamten Isoproturonkonzentration in Berührung kommen, bevor ein Teil des Isoproturons im Boden zeitabhängig unterschiedlich stark sorbiert wird und nur teilweise bioverfügbar ist.

Insgesamt zeigt diese Diskussion, daß es noch einen hohen Forschungsbedarf erstens im Bereich der Frage der Bioverfügbarkeit gibt und zweitens in dem Gebiet der Boden-Biotests, insbesondere mit Algen und deren Sensibilität im Vergleich zu aquatischen Biotests. Letzterer Punkt wird in vorliegender Arbeit in Tab. 19 (s. S. 92) behandelt.

Um die Empfindlichkeiten aller Testbodenalgae gegenüber der Wasseralge *Scenedesmus* vergleichen zu können, wurde der Bodenalgae-mittelwert_{EC50} entwickelt. Er besteht aus dem Mittelwert der fünf im Gel-Biotest oder im Boden-Biotest ermittelten EC₅₀-Werte der

Bodenalgen mit Angabe der Minimal- und Maximalwerte. Mit diesem Wert wird nicht nur deutlich, ob die getesteten Bodenalgen im Mittel sensibler oder unsensibler als *Scenedesmus* gegenüber einem Teststoff sind, sondern es ist auch die Reaktionsbreite der Bodenalgen erkennbar.

Vergleicht man die EC_{50} -Werte, die für Cadmium im Gel-Biotest mit *Scenedesmus subspicatus* gewonnen wurden, mit dem Bodenalgenmittelwert $_{EC_{50}}$, so zeigt sich, daß letzterer Wert mit 4,23 mg/l um das 10fache höher liegt als der EC_{50} -Wert von *Scenedesmus*, die damit in der Regel empfindlicher gegenüber Cadmium ist als Bodenalgen (s. Tab. 19). Dies könnte damit erklärt werden, daß Algen im Boden höheren Konzentrationen an unterschiedlichsten Stoffen und Spurenelementen ausgesetzt sind und der natürliche Schwermetallgehalt in unbelasteten Böden größer ist als der im Wasser. Für den Boden-Biotest ist aus den in Kap. 4.5.3 (s. S. 82) genannten Gründen keine Berechnung des Bodenalgenmittelwertes $_{EC_{50}}$ möglich.

Tab. 19: Die Bodenalgenmittelwerte $_{EC_{50}}$ und die EC_{50} -Werte von *Scenedesmus subspicatus* des Gel-Biotests und des Boden-Biotests für Cadmium und Isoproturon in mg/l OECD-Medium beim Gel-Biotest und in mg/kg OECD-Mediumbodengemisch beim Boden-Biotest.

Bio-test	EC_{50} -Wert für <i>Scenedesmus subspicatus</i> bei Cadmium	Bodenalgen-mittelwert $_{EC_{50}}$ bei Cadmium	EC_{50} -Wert für <i>Scenedesmus subspicatus</i> bei Isoproturon	Bodenalgen-mittelwert $_{EC_{50}}$ bei Isoproturon
Gel-Biotest	0,44	Minimum 0,33 4,23 Maximum 8,06	0,42	Minimum 0,25 0,75 Maximum 2,74
Boden-Biotest	> 8,0	> 8,0	0,35	Minimum 0,21 0,53 Maximum 0,92

Für Isoproturon läßt sich weder im Gel-Biotest noch im Boden-Biotest ein Unterschied zwischen den EC_{50} -Werten für *Scenedesmus* und dem Bodenalgenmittelwert $_{EC_{50}}$ feststellen. Die Tatsache, daß *Scenedesmus subspicatus* sich in seinen EC_{50} -Werten nicht wesentlich von den Bodenalgenmittelwerten $_{EC_{50}}$ für den Gel-Biotest und Boden-Biotest unterscheidet, könnte damit erklärt werden, daß Isoproturon ein Xenobiotika ist und weder im Boden noch im Wasser vorkommt. Dementsprechend konnten sich keine Toleranzen bei den Bodenalgen gegenüber diesem Teststoff ausbilden.

4.7 Vergleich des Biotestsystems mit Bodenalgen gegenüber anderen Biotests

Die Vorteile des in vorliegender Arbeit entwickelten Testsystems gegenüber einer Vielzahl anderer Biotests und Testsysteme sind in Tab. 20 aufgeführt. Dabei kann nicht auf einzelne

Tests, z. B. Pflanzentests mit speziellen Arten, genauer eingegangen werden, so daß die Aussagen nur einen überblicksmäßigen Charakter haben.

Tab. 20: Vorteile des entwickelten Biotestsystems mit Bodenalgeln, bestehend aus Gel- und Boden-Biotest, gegenüber anderen Biotests

Biotests bzw. Biotestgruppen	Vorteile des Testsystems gegenüber einzelnen Biotests bzw. Biotestgruppen	Vorteile gegenüber allen genannten Biotests
Pflanzenbiotests in Böden	<ul style="list-style-type: none"> - Nutzung von eukaryontischen Organismen mit kurzen Vermehrungszeiten – Versuchsdauer 96 h - Nutzung von pflanzlichen Zellen in einem miniaturisierten Test - geringer Material- und Platzbedarf - geringe toxische Abfallmengen 	<ul style="list-style-type: none"> - Vergleichsmöglichkeit der Auswirkung verschiedener Kontaminationspfade auf Algen in flüssigen und bodennahen Substraten durch ähnliches Testdesign zwischen Gel- und Boden-Biotest
Biotests mit Mikroorganismen, die Enzymaktivitäten nutzen	<ul style="list-style-type: none"> - Aussagemöglichkeiten über die toxikologischen Kennwerte einzelner Arten – trotzdem Berücksichtigung mehrerer Arten 	
Biotests mit Mikroorganismen einer Art	<ul style="list-style-type: none"> - Einsatz von mehreren cytologisch sehr verschiedenen Algenarten, statt nur einer Art - Einsatz von Algenarten aus den Lebensräumen Wasser und Boden 	
DIN 28 692 Biotest - Wachstumshemmtest mit der aquatischen Alge <i>Scenedesmus subspicatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Einsatz von sechs verschiedenen Algenarten als Testorganismen gegenüber einer Art im DIN-Test - Einsatz von Bodenalgarten, die im DIN-Test bisher unberücksichtigt blieben - Vergleichsmöglichkeit zwischen der Sensibilität einer aquatischen Alge (<i>Scenedesmus subspicatus</i>) mit mehreren Bodenalgarten - Miniaturisierung – geringer Material- und Platzbedarf, sowie nur kleine Mengen toxischen Abfalls - effektiveres Meßverfahren durch Verwendung eines Mikrotiterplattenphotometers beim Gel-Biotest - Durch Verwendung des gleichen Versuchsmediums und der gleichen aquatischen Testlage im Gel-Biotest besteht die Möglichkeit der Vergleichbarkeit und Überprüfbarkeit der Ergebnisse mit Literaturdaten (s. Kap. 4.4.5, S. 75). 	

Insgesamt eignet sich das in dieser Arbeit entwickelte Biotestsystem aus Gel-Biotest und Boden-Biotest dazu, differenzierte Aussagen über das ökotoxikologische Potential von Stoffen für Bodenalgae und für die Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus* zu erhalten.

Der Einsatz eines Flüssigmediums und eines naturnahen Bodens in dem Biotestsystem ermöglicht die Nachahmung der Kontaminationspfade, über die sich ein Teststoff im Wasser und Boden verbreitet. Somit kann die ökotoxikologische Wirkung von Teststoffen auf Algen im Wasser und Boden gleichermaßen festgestellt werden. Gleichzeitig stellt das entwickelte Testsystem die Bedeutung der noch kaum erforschten Organismengruppe der Bodenalgae mit ihren vielfältigen ökologischen Funktionen, ihrer hohen Artenanzahl und Individuendichte im Boden für die ökotoxikologische Forschung heraus.

5 AUSBLICK

Das entwickelte Biotestsystem mit Bodenalggen wurde beim „Technischen Komitee 190 - Soil Quality“ der International Standards Organization (ISO) eingereicht. Von dessen Seite wurde großes Interesse signalisiert mit der Bitte um Einsendung eines Normenentwurfes des Biotestsystems.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Biotests sind für die toxikologische Bewertung von Chemikalien, Pflanzenschutzmitteln und schadstoffbelasteten Gewässern oder Böden von besonderer Bedeutung, da sie Auskünfte über die biologische Wirksamkeit eines Stoffes auf Organismen geben. Bislang gibt es für die ökotoxikologische Bewertung, insbesondere von Chemikalien und Pflanzenschutzmitteln, für die autotrophe Organismenebene neben verschiedenen Biotests mit höheren Pflanzen den DIN 28 692 Biotest „Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum*“, der auch als OECD 201 Biotest „Algal, Growth Inhibition Test“ vorliegt. Dieser aquatische Biotest wird nur mit einer Süßwasseralgenart durchgeführt und trotzdem zunehmend für die Bewertung von belasteten Böden und Sedimenten eingesetzt. Untersuchungen über aquatische Biotests, die Bodenalgeln als Testorganismen nutzen, oder Boden-Biotests mit Bodenalgeln gibt es nur vereinzelt. Ein Biotestsystem, das sowohl aus einem aquatischen als auch aus einem terrestrischen Biotest besteht und mehrere Bodenalgelnarten als Testorganismen nutzt, existiert bisher nicht. Dieses wurde in vorliegender Arbeit entwickelt und an dem Schwermetall Cadmium als Cadmiumchlorid und dem Herbizid Arelon, Wirkstoff Isoproturon erprobt.

Um Bodenalgeln, die keine Resistenzen oder Toleranzen gegenüber Schadstoffen aufweisen, als Testorganismen nutzen zu können, wurden aus unbelasteten Böden Algen isoliert, Klonkulturen erstellt und die Arten bestimmt. Dies führte zu einer Sammlung mit 35 Algenarten. In den dafür notwendigen Isolierungsversuchen aus unterschiedlichen Böden zeigte sich, daß Bodenalgeln in Abundanzen von 800 000 cfu/g TS Boden bis 1 000 000 cfu/g TS Boden vorkamen und auch in nährstoffarmen Sandböden noch in einer Dichte von 400 000 cfu/g TS Boden auftraten. Aus den in die Bodenalgelsammlung aufgenommenen Arten wurden *Xanthonema tribonematoides*, *Stichococcus bacillaris*, *Klebsormidium flaccidum*, *Xanthonema montanum* und *Chlamydomonas noctigama* für das Testsystem ausgewählt. Diese eigneten sich als Testorganismen, da es sich um häufig aus Böden isolierte, sich in Zellmorphologie, Wachstumsgeschwindigkeit und Vermehrungsart unterscheidende Arten handelte, die damit ein weites Spektrum der Algenvielfalt im Boden abdecken. Zusätzlich zu diesen wurde die Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus* als Referenzalge ausgewählt.

Mit diesen Algen wurde der Gel-Biotest, bestehend aus einem flüssigen gelartigen Medium, das die Kontaminationspfade im Wasser nachbildet, und ein Boden-Biotest mit einem naturnahen sorptionsschwachen Boden entwickelt, der die Kontaminationspfade über Gas-, Wasser- und Festphase im Boden nachbildet. Im Gel-Biotest wurden alle sechs Algenarten und im Boden-Biotest vier Algenarten eingesetzt. In beiden Biotests wurde die Sensibilität der Testorganismen über mehrere Generationen durch die Wachstumshemmung innerhalb von 96 h gemessen. Die Kulturbedingungen und ein Teil der Medienzusammensetzung waren identisch, so daß es möglich war, die ermittelten EC-Werte miteinander zu vergleichen. Eine Reduzierung des Material-, Zeit- und Kostenaufwandes trotz der Verwendung von vier bzw. sechs Testorganismen gegenüber dem DIN-Algentest konnte erreicht werden, indem beide

Biotests auf Mikrotiterplattenebene entwickelt wurden. Der Gel-Biotest konnte zudem mit Hilfe eines Mikrotiterplattenphotometers zügig ausgewertet werden.

Bei der Erprobung dieses Biotestsystems mit Cadmiumchlorid und Isoproturon zeigte sich, daß Bodenalggen gegenüber Cadmiumchlorid im Gel-Biotest eine geringe bis mittlere Sensibilität aufwiesen. Im Boden-Biotest lag eine sehr geringe Sensibilität vor, wie dies auch bei anderen Bodenorganismengruppen in Biotests festgestellt wurde. Dies kann mit der Sorption der Cadmiumionen im Boden erklärt werden und dem damit geringen für die Organismen bioverfügbaren Cadmiumionenanteil. Für Isoproturon lag sowohl im Gel- als auch im Boden-Biotest eine hohe Sensibilität der Bodenalggen vor. Erstaunlich war, daß die Sensibilität in beiden Biotests nahezu identisch war, obwohl Isoproturon in sorptions-schwachen Böden zu ca. 30 % adsorbiert wird. Eine Erklärung ist, daß auch das sorbierte Isoproturon Bodenalggen beeinflussen kann. Dies könnte durch die enge Assoziation möglich sein, die Bodenalggen zu Bodenpartikeln besitzen oder durch die von Algen ausgeschiedenen Schleime, die sorbierte Isoproturonanteile eventuell wieder bioverfügbar werden lassen. Eine andere Vermutung ist, daß die Algen zu Beginn des Versuches durch die gesamte Isoproturonkonzentration beeinflußt wurden, bevor ein Teil derselben im Boden sorbiert wurde.

Im Vergleich zur Sensibilität von *Scenedesmus subspicatus* waren die Bodenalggen bei Cadmiumchlorid bis auf zwei Ausnahmen um den Faktor 5 bis 10 unsensibler. Die Bodenalge *Klebsormidium flaccidum* besaß eine vergleichbare Sensibilität und *Xanthonema montanum* war um den Faktor 20 unsensibler. Für Isoproturon konnten keine Unterschiede in der Sensibilität zwischen *Scenedesmus subspicatus* und den geprüften Bodenalggen ermittelt werden, außer bei *Stichococcus bacillaris*, die um den Faktor 5 unempfindlicher war.

Das entwickelte miniaturisierte Biotestsystem eignet sich dazu, differenzierte Aussagen über das ökotoxische Potential von Stoffen auf Bodenalggen und der Süßwasseralge *Scenedesmus subspicatus* zu erhalten. Durch den Einsatz von zwei unterschiedlichen Testsubstraten (Flüssigmedium und naturnaher Boden) werden der Einfluß dieser Substrate sowie die daraus resultierenden Kontaminationspfade der Teststoffe und ihre ökotoxikologische Wirkung auf Algen feststellbar und vergleichbar.

Ein Normenentwurf des Biotestsystems wurde inzwischen in das "Technical Committee 190 - Soil Quality" der International Standards Organization (ISO) eingereicht.

7 SUMMARY

Biotests are an important device to assess the toxicity of chemicals, pesticides, polluted water, and soils because they can provide direct information about the influence of a compound on the organism level. Besides various biotests using higher plants there is only the DIN 28 692 biotest “Growth-inhibition test using fresh water algae *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*” (DIN 28 692) also known as the OECD 201 biotest “Algal, Growth Inhibition Test” which is currently available for an ecotoxicological assessment of chemicals such as pesticides on the autotrophic organism level. This aquatic biotest is based on a single specie of fresh water algae and is increasingly applied to evaluate polluted soils and sediments. There is almost no information on aquatic biotests which are using soil algae as test organisms instead. A more comprehensive biotest system which actually combines aquatic and terrestrial biotests using several soil algae species as test organisms has not been reported, yet. Thus, a biotest system was developed and subsequently evaluated by using cadmium (cadmium chloride) as a heavy metal, and the herbicide arelon containing isoproturon as the active ingredient.

Soil algae were isolated from unpolluted soil in order to obtain test organisms which are not resistant or tolerant to pollutants. The algae isolates were then cultivated, and subsequently identified. A total of 35 algae species was collected. Cell numbers of algae found in different soils ranged from 800 000 to 1 000 000 cfu/g dry soil. Even a sandy soil with low nutrient levels contained 400 000 cfu/g dry soil. Algae species used in the biotest system were *Xanthonema tribonematoides*, *Stichococcus bacillaris*, *Klebsormidium flaccidum*, *Xanthonema montanum*, *Chlamydomonas noctigama*. These species were chosen because they represent the broad spectrum of algae which were not only frequently isolated from soil, but did also markedly differ in cell morphology, growth rate, and the way they reproduce. In addition, the fresh water specie *Scenedesmus subspicatus* served as a reference algae.

Based on these different algae species a gel biotest using liquid gel medium was developed to investigate the contamination path via water, and also a soil biotest with a pre-treated soil of low sorption capacity was devised to simulate the contamination path through gas, water, and solid phase. The gel biotest did included all six algae species but only four were part of the soil biotest. In both biotests, the sensitivity of the test organisms was tested over several generations by measuring growth inhibition during a period of 96 hours. Since culture conditions, and in part the composition of the culture medium were identically, the measured EC values could be compared directly. The input of material, time and expenses was clearly reduced compared to the DIN algae test although 4 and 6, respectively, test organisms were handled. This was accomplished by employing microplate based techniques for both tests, and further by automatic analysis of the gel biotest plates with a microplate photometer.

The evaluation of the biotest system using cadmium chloride and isoproturon did reveal that soil algae have had only low to medium sensitivity to cadmium chloride in the gel biotest. Algae sensitivity in the soil biotest was very low which was in accordance with data from

other biotests using different soil organisms. The weak response of the algae was most likely caused by the sorption of the cadmium ions to the soil matrix what may have decreased the bioavailability of cadmium. In comparison, soil algae were very sensitive to isoproturon in both, the gel biotest and the soil biotest. Both biotests indicated almost identical sensitivities of the tested soil algae which was surprising since 30 % of the isoproturon was sorbed even in soils with a low sorption capacity. There are two possible explanations. First, even the sorbed isoproturon fraction may have influenced soil algae by either the close contact of the algae cells with the loaded soil particles or by slime excreted by the cells, which may have caused a desorption of compound, and therefore an increased bioavailability of isoproturon. Second, the algae were influenced by isoproturon in the beginning of the experiment when most of the compound was still bioavailable.

Soil algae when compared to the water algae *Scenedesmus subspicatus* were generally 5 to 10-fold less sensitive to cadmium chloride. Only *Klebsormidium flaccidum* has proved to have a similar sensitivity as *Scenedesmus subspicatus* had, whereas *Xanthonema montanum* was about 20-fold less sensitive. With isoproturon, however, no differences in sensitivity could be seen between *Scenedesmus subspicatus* and the tested soil algae, except *Stichococcus bacillaris* which was about 5-fold less sensitive.

The biotest system as developed in this study has shown to be suitable for obtaining valuable information about ecotoxicological effects of chemicals on soil and water algae. Since the biotest system consists of two different test media (liquid gel and soil) it is possible to determine ecotoxicological effects on algae in both, water and soil.

A first draft of the developed biotest system has been submitted to the “Technical Committee 190 - Soil Quality” of the International Standards Organization (ISO) for review.

8 LITERATUR

- Addison, D. A. & Bardsley, C. E. (1968). *Chlorella vulgaris* assay of the activity of soil herbicides. *Weed Sci.* 16: 427-429.
- Ahlf, W. (1995). Biotest an Sedimenten. In: Steinberg, C., Bernhardt, H. & Klapper, H. (Hrsg.). *Handbuch angewandte Limnologie*. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech; 2-43.
- Ahlf, W., Gunkel, J., Liß, W., Neumann-Hensel, Rönnpagel, K. & Förstner, U. (1992). Mikrobielle Biotests mit Sedimenten. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 427-435.
- Aktins, C. A. & Tchan, Y. T. (1967). Study of soil algae - VI. Bioassays of atrazine and the prediction of its toxicity in soils using an algal growth method. *Plant Soil* XXVII (3): 432-442.
- Alef, K. (1991). *Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie - Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung*. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech.
- Alexander, M. (1961). *Introduction to soil microbiology*. John Wiley & Sons: New York.
- Alexander, M. (1991). *Introduction to soil microbiology*. Krieger Publishing Company: Malabar, Florida.
- Alfinito, S., Fumanti, B. & Cavacini, P. (1998). Epiphytic algae on mosses from Northern Victoria Land (Antarctica). *Nova Hedwigia* 66 (3-4): 473-480.
- Alloway, B. J. (1995). *Heavy metals in soils*. Chapman & Hall: Glasgow.
- Anderson, J. P. E., Castle, D., Ehle, H., Eichler, D., Laermann, H.-T., Maas, G. & Malkomes, H. - P. (1990). Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil VI, 1-1. Pigge Lettershop GmbH, 2. Aufl.: Braunschweig.
- Arndt, U., Nobel, W. & Schweitzer, B. (1987). *Bioindikatoren - Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse*. Ulmer Verlag: Stuttgart.
- Bächter, K. (1995). Cadmium - Auswirkungen gesetzlicher Beschränkungen auf den Einsatz in Produkten. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotoxikol.* 7 (2): 102-109.
- Bailey, D., Mazurak A. P. & Rosowski J. R. (1973). Aggregation of soil particles by algae. *J. Phycol.* 9: 99-101.
- Bartlett, L., Rabe, F. W. & Funk, W. H. (1974). Effects of copper, zinc and cadmium on *Selenastrum capricornutum*. *Water Res.* 83: 179-185.
- Bauer, K. & Köcher, H. (1979). Die Wirkung 2,3-substituierter Naphthochinone auf einzellige Algen und isolierte Spinat-chloroplasten. *Z. Naturforschung* 34c (11): 961-963.
- Baunemann, R. & Höfner, W. (1991). Einfluß von Cd, Cu, Ni und Zn auf die Synthese metallothioneinähnlicher Substanzen in *Scenedesmus subspicatus*. *Z. Pflanzen-ernähr. Bodenk.* 154: 81-85.
- Berger, B. & Heitefuss, R. (1990). Anwendung von Isoproturon, allein und in Kombination mit anderen Wirkstoffen, im Nachauflauf-Winter (NA-W) und Nachauflauf-Frühjahr (NA-F) zu Winterweizen und Wintergerste - I. Abbauverhalten und Ertragswirksamkeit. *Weed Res.* 30: 251-259.
- Berger, B. & Heitefuss, R. (1991). Anwendung von Isoproturon, allein und in Kombination mit anderen Wirkstoffen, im Nachauflauf-Winter (NA-W) und Nachauflauf-Frühjahr (NA-F) zu Winterweizen und Wintergerste - II. Nebenwirkungen auf die Dehydrogenaseaktivität, den Stickstoffumsatz und den Strohabbau im Boden. *Weed Res.* 31: 9-18.
- Bischoff, H. W. & Bold H. C. (1963). *Phycological Studies IV. Some algae from Enchanted Rock and related algae species*. Univ. Texas Publ. 631: 1-95.
- Blanck, H. (1984). Species dependent variation among aquatic organisms in their sensitivity to chemicals. *Ecol. Bull.* 36: 107-119.

- Bonilla, S., Conde, D. & Blanck, H. (1998). The photosynthetic responses of marine phytoplankton, periphyton and epipsammon to the herbicides paraquat and simazine. *Ecotoxicology* 7: 99-105.
- Bringmann, G. & Kühn, R. (1959). Vergleichende wassertoxikologische Untersuchungen an Bakterien, Algen und Kleinkrebsen. *Gesundheits-Ingenieur* 4 (80): 115-120.
- Bringmann, G. & Kühn, R. (1980). Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae, and protozoa in the cell multiplication inhibition test. *Water Res.* 14: 231-241.
- Broady, P. A. (1982). Green and yellow-green terrestrial algae from Surtsey (Iceland) in 1978. *Surtsey Res. Progress Rep.* 9: 13-32.
- Bundes-Bodenschutzgesetz - BBodSchG (1998). Gesetz zum Schutz des Bodens vom 17. März 1998 (BGBl. I S. 502).
- Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung - BBodSchV (1999) vom 12. Juli 1999 (BGBl. I S. 1554).
- Burhenne, M. (1994). Hefeartige Pilze in schwermetallhaltigen Rieselfeldböden und ihre Toleranzgrenzen. Diplomarbeit, Fachbereich Biologie der Freien Universität Berlin: Berlin.
- Burhenne, M. (1996). Quantitative Analyse von Bodenalgae in mit Schwermetallen (Cadmium und Blei) belasteten Böden. *Jahresb. Biol. Bundesanst. Land- und Forstw.* 1996: 136-137.
- Burhenne, M., Deml, G. & Steinberg, C. (1999). Ein Biotestsystem mit verschiedenen Bodenalgae zur ökotoxikologischen Bewertung von Schwermetallen und Pflanzenschutzmitteln. In: Oehlmann, J. & Markert, B. (Hrsg.). *Ökotoxikologie - Ökosystemare Ansätze und Methoden*. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech; 73-84.
- Burhenne, M., Schneider, I. & Bukowsky, H. (1997). Rieselfelder - Schwermetalle in Böden der Rieselfelder Berlin Süd. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotoxikol.* 9 (2): 94-96.
- Canton, J. H. & Slooff, W. (1982). Toxicity and accumulation studies of cadmium (Cd^{2+}) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 6: 113-128.
- Carson, J. L. & Brown Jr., M. B. (1978). Studies of Hawaiian freshwater and soil algae II. Algal colonization and succession on a dated volcanic substrate. *J. Phycol.* 14 (2): 171-178.
- Champbell, R., Berkeley, R. C. W., Linton, A. H. & Madelin, M. F. (1979). Microbiology of soil, air and water. In: Hawker, L. E. & Linton, A. H. (Hrsg.): *Microorganisms - function form and environment*. Arnold, 2. Aufl.: London; 243-274.
- Chang, F.-H. & Broadbent, F. E. (1981). Influence of trace metals on carbon dioxide evolution from a yolo soil. *Soil Sci.* 132 (6): 416-421.
- Chapman, P. F., Crane, M., Wiles, J., Noppert, F. & McIndoe, E. (1996). Improving the quality of statistics in regulatory ecotoxicity tests. *Ecotoxicology* 5: 169-186.
- Chemikaliengesetz - ChemG (1994). Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen vom 25. Juli 1994 (BGBl. I S. 1689).
- Chen, C.-Y., Lin, K.-C. & Yang, D.-T. (1997). Comparison of the relative toxicity relationships based on batch and continuous algal toxicity tests. *Chemosphere* 35 (9): 1959-1965.
- Chou, C. C. & Hee, S. S. Q. (1994). Bioassay-driven analysis of chewing tobacco extracts. *Environ. Toxicol. Chem.* 13 (7): 1177-1186.
- Coester, M., Pfisterer, U. & Siem, H.-K. (1997). Bodenentwicklung und Schwermetallgehalte einer Straßenkehrrichtdeponie. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 160: 89-92.
- Cox, L. & Walker, A. (1999). Studies of time-dependent sorption of Linuron and Isoproturon in soils. *Chemosphere* 12: 2707-2718.
- Cullimore, D. R. & McCann, A. E. (1977). Influence of four herbicides on the algal flora of a prairie soil. *Plant Soil* 46: 499-510.
- Day, K. E. (1993). Short-term effects of herbicides on primary productivity of periphyton in lotic environments. *Ecotoxicology* 2: 123-138.

- Debus, R. & Hund, K. (1995). Entwicklung analytischer Methoden zur Erfassung biologisch relevanter Belastungen von Böden - ökotoxikologische Analytik im Boden und in Extrakten. In: Kirchner, M. & Bauer, H. (Hrsg.). Proceedings - Statusseminar Förderschwerpunkt „Ökotoxikologie“ des BMBF, 4. - 5.10.1994 Neuherberg: 215-225.
- DFG (1994). Ökotoxikologie von Pflanzenschutzmitteln, Sachstandsbericht Kurzfassung. VCH Verlagsgesellschaft mbH: Weinheim.
- Dillwyn, L. W. (1809). British Confervae. London.
- DIN 38 412 - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Grünalgen (*Scenedesmus*-Zellvermehrungs-Hemmtest) (L 9). DEV - 22. Lieferung (1989).
- DIN 28 692 - Wasserbeschaffenheit. „Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum*“ (ISO 8692, 1993). DEV - 29. Lieferung (1993).
- Dinnel, P. A., Link, J. M., Stober, Q. J., Letourneau, M. W. & Roberts, W. E. (1989). Comparative sensitivity of sea urchin sperm bioassay to metals and pesticides. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18: 748-755.
- Dodge, J. D. & Shubert, L. E. (1996). Algae. In: Hall, G. S. (ed.). Methods for the Examination of Organismal Diversity in Soils and Sediments. CAB International: Wallingford.
- Domsch, K. (1992). Pestizide im Boden: Mikrobieller Abbau und Nebenwirkungen auf Mikroorganismen. VCH-Verlag: Weinheim, New York, Basel, Cambridge.
- Dott, W. & Klein, J. (1995). Biologische Testmethoden für Böden - Adhoc-Arbeitsgruppe „Methoden zur toxikologischen/ökotoxikologischen Bewertung von Böden“. Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparatuswesen, Chemische Technik und Biotechnologie e. V., DECHEMA: Frankfurt am Main.
- Drew, A. & Anderson J. R. (1977). Studies on the survival of algae added to chemically treated soils-1 Methodology. Soil Biol. Biochem. 9: 207-215.
- Einax, J. & Krieg, M. (1995). Zeitliche Entwicklung und aktuelle Beurteilung der Bodenkontamination durch Blei im Umfeld eines glasverarbeitenden Werkes in Thüringen. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 158: 355-359.
- Ettl, H. (1980). Grundriß der allgemeinen Algologie. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart.
- Ettl, H. & Gärtner, G. (1995). Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart.
- Faust, M., Altenbruger, R., Bödeker, W. & Grimme, L. H. (1992). Algentoxizitätstest mit synchronisierten Kulturen. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). Biologische Testverfahren. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 311-321.
- Fent, K. (1998). Ökotoxikologie. Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie. Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York.
- Fischer, C. & Hein, B. (1990). Blei und Cadmium in Pilzen aus Westberlin. Z. Mykol. 56 (1): 159-166.
- Fischer, P., Hartmann, H., Bach, M., Burhenne, J., Frede, H.-G. & Spiteller, M. (1998). Gewässerbelastungen durch Pflanzenschutzmittel in drei Einzugsgebieten. Ges. Pfl. 50: 142-147.
- Flechter, J. E. & Martin, W. P. (1948). Some effects of algae and molds in the rain-crust of desert soils. Ecology 29 (1): 95-100.
- Friedmann, I., Lipkin, Y. & Ocampo-Paus, R. (1967). Desert algae of the Negev (Israel). Phycologia 6 (4): 185-200.
- Frostegard, A., Tunlid, A. & Baath, E. (1993). Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Appl. Environ. Microbiol. 59 (11): 3605-3617.
- Fuller, W. H. & Rogers, R. N. (1952). Utilization of the phosphorus of algal cells as measured by the Neubauer technique. Soil Sci. 74: 417-430.

- Gaillardon, P. (1997). Desorption of Diuron and Isoproturon from undispersed clay loam soil. *Pest. Sci.* 51: 185-193.
- Galassi, S. & Vighi, M. (1981). Testing toxicity of volatile substance with algae. *Chemosphere* 10 (10): 1123-1126.
- Gärtner, G. (1996). ASIB - the culture collection of algae at the Botanical Institute of the University at Innsbruck (Austria). *Ber. nat.-med. Verein Innsbruck* 83: 45-69.
- Gatzweiler, E. & Schiller, R. (1998). Differenzierte Interpretation von Wasser-Monitoring-Daten zu Isoproturon. *Z. PflKrankh. PflSchutz., Sonderh. XVI*: 739-744.
- Gerhardt, V. & Putzger, J. (1992). Ein Biotest zur Gewässerüberwachung auf der Grundlage der verzögerten Fluoreszenz von Algen. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 277-284.
- Gisi, U., Schenker, R., Schulin, R., Stadelmann, F. X. & Sticher, H. (1990). *Bodenökologie*. Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York.
- Gistl, R. (1933). Erdalgen und Düngung - Erdalgen und Anionen. *Arch. Mikrobiol.* 3: 348-378.
- Gonzalez Ponce, R. & Rodriguez Senas, J. (1983). Experiments with isoproturon for the control of weeds in winter cereal crops. *Weed Res.* 23: 39-43.
- Greene, J. C., Miller, W. E., Shiroyama, T. & Maloney, T. E. (1975). Utilization of algal assays to assess the effects of municipal, industrial and agricultural wastewater effluents upon phytoplankton production in the snake river system. *Water Air Soil Pollut.* 4: 415-434.
- Greene, J. C., Soltero, R. A., Miller, W. E., Gasperino, A. F. & Shiroyama, T. (1976). The relationship of laboratory algal assays to measurements of indigenous phytoplankton in Long Lake, Washington. In: Middlebrooks, E. J., Falkenberg, D. H. & Maloney, T. E. (eds.). *Biostimulation and nutrient assessment*. Ann Arbor Science: Ann Arbor.
- Grimme, L. H., Altenburger, R., Bödeker, W. & Faust, M. (1996). Kombinationswirkungen in der aquatischen Toxikologie. *Z. Umweltchem. Ökotoxikol.* 8 (3): 150-158.
- Guilhermino, L., Celeste Lopes, M., Carvalho, A. P. & Soares, A. M. V. M. (1996). Inhibition of acetylcholinesterase activity as effect criterion in acute tests with juvenile *Daphnia magna*. *Chemosphere* 32 (4): 727-738.
- Günther, P. & Pestemer, W. (1990). Risk assessment for selected xenobiotics by bioassay methods with higher plants. *Environ. Management* 14 (3): 381-388.
- Gutsche, V. & Roßberg, D. (1997). Die Anwendung des Modells SYNOPS 1.2 zur synoptischen Bewertung des Risikopotentials von Pflanzenschutzmittelwirkstoffgruppen für den Naturhaushalt. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 49: 273-285.
- Hahn, A. & Neuhaus, W. (1997). Boden-Diatomen einer landwirtschaftlichen Nutzfläche bei Potsdam, Deutschland. *Nova Hedwiga* 65 (1-4): 285-298.
- Hall, S., Paulson, R. L., Hall, L. W. & Burton, D. T. (1986). Acute toxicity of cadmium and sodium pentachlorophenate to daphnids and fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37: 308-316.
- Hammel, W., Steubing, L. & Debus, R. (1998). Assessment of the ecotoxic potential of soil contaminants by using a soil-algae test. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 40: 173-176.
- Haren, R. J. F. van, Schepers, H. E. & Kooijman, S. A. L. M. (1994). Dynamic energy budgets effect kinetics of xenobiotics in the marine mussel *Mytilus edulis*. *Chemosphere* 29 (2): 163-189.
- Helling, C. S., Kaufman, D. D. & Dieter, T. (1971). Algae bioassay detection of pesticide mobility in soils. *Weed Sci.* 19 (6): 685-690.
- Heymann, H. & Wiechmann, H. (1996). Cadmiumverfügbarkeit für Gemüsepflanzen in Kleingärten. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 159: 459-465.

- Hock, B., Fedtke, C. & Schmidt, R. R. (1995). Herbizide - Entwicklung, Anwendung, Wirkungen, Nebenwirkungen. Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York.
- Hoeven, N. van der (1998). Power analysis for the NOEC: What is the probability of detecting small toxic effects on three different species using the appropriate standardized test protocols. *Ecotoxicology* 7: 355-361.
- Hofer, G. F. (1993). Der Oberösterreichische Bodenkataster - Schwermetallbelastungen. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 72: 1351-1354.
- Hoffmann, G. (1991). Bestimmung des Wassergehaltes (bzw. der Trockenmasse) durch Trocknen im Trockenschrank. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, Methodenhandbuch Band I, die Untersuchung von Böden. VDLUFA-Verlag: Darmstadt.
- Höhne, L. (1991). Entwicklung eines einfachen Algentests als Schnelltest i. S. des § 7a WHG und AbwAG. Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Wasserwirtschaft, Forschungsbericht 102 05 151.
- Hollemann, A. F. & Wiberg, E. (1985). Lehrbuch der anorganischen Chemie. Walter de Gruyter, 91.-100. Aufl.: Berlin, New York.
- Hoof, F. V., Ackermann, S. P. & Celens, J. (1992). Herbicides in the River Meuse Basin in Belgium and their behaviour during water treatment. *Water supply* 10: 81-88.
- Hornburg, V. & Brümmer, G. (1989). Untersuchungen zur Mobilität und Verfügbarkeit von Schwermetallen in Böden. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 59 (2): 727-732.
- Huber, H. Ch., Huber, W. & Ritter, U. (1986). Ein einfaches in vitro Prüfsystem zur Toxizitätsbestimmung von Umweltchemikalien mit monoxenischen Mikrokulturen von *Tetrahymena pyriformis*. *Z. Wasser Abwasser Forsch.* 24: 109-112.
- Hund, K. (1997). Algal growth inhibition test - feasibility and limitations for soil assessment. *Chemosphere* 35 (5): 1069-1082.
- ISO 8692 - Water quality. Fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum* (1993).
- Jansen, L. L., Gentner, W. A. & Hilton, J. L. (1958). A new method for evaluating potential algicides and determination of the algicidal properties of several substituted-urea and s-Trianzine compounds. *Weeds* 6 (1): 390-398.
- Joermann, G., Köpp, H. & Kula, C. (1996). Fachgespräche zur Statistik in der Ökotoxikologie, 26. - 27. September 1995, Braunschweig. *Berichte a. d. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtschaft*, Heft 17.
- Keese, H. (1984). Herbizidspäthanwendung in Wintergerste. *Ges. Pfl.* 36 (11): 389-395.
- Kenaga, E. E. (1980). Predicted bioconcentration factors and soil sorption coefficients of pesticides and other chemicals. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 4: 26-38.
- Keshtacher-Liebson, E., Hadar, Y. & Chen, Y. (1995). Oligotrophic bacteria enhance algal growth under iron-deficient conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (6): 2439-2441.
- Kirby, M. F. & Sheahan, D. A. (1994). Effects of atrazine, isoproturon and mecoprop on the macrophyte *Lemna minor* and the alga *Scenedesmus subspicatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53: 120-126.
- Klärschlammverordnung (1997). Klärschlammverordnung (AbfKlärV) vom 15. April 1992 (BGBl. I S. 912), geändert am 6.3.1997 (BGBl. I S. 446).
- Kleinig, H. & Sitte, P. (1992). Zellbiologie. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart.
- Klimanek, E.-M. & Mücke, A. (1996). Untersuchungen zum Einsatz von Grünalgen als Bioindikatoren zum Schadstoffscreening von Bodenproben. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 81: 73-76.

- Klingauf, F. (1998). Datenanforderungen und Entscheidungskriterien der Europäischen Union und der Bundesrepublik Deutschland im Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. 354.
- Knie, J. (1992). Algen-Abwassertest - Erfahrungen aus Nordrhein-Westfalen. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). Biologische Testverfahren. Schr.-Reihe Verein WaBoLu 89, Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 539-552.
- Koch, R. (1995). Umweltchemikalien, physikalisch-chemische Daten, Toxizitäten, Grenz- und Richtwerte, Umweltverhalten. VCH-Verlag: Weinheim, New York, Cambridge, Basel.
- Kooijman, S. A. L. M. (1996). The Dynamic Energy Budget (DEB) Model. In: Draft report of the OECD workshop on statistical analysis of aquatic toxicity data. Braunschweig, Germany, 15-17 October 1996; Annex 9: 1-5.
- Kooijman, S. A. L. M. (1998). Process-oriented descriptions of toxic effects. In: Schüürmann, G. & Markert, B. (Hrsg.). Ecotoxicology - ecological fundamentals, chemical exposure and biological effects. Spektrum, Akad. Verl.: New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, Weinheim, Heidelberg, Berlin; 483-520.
- Kooijman, S. A. L. M. & Bedaux, J. J. M. (1996). Dynamic measures for ecotoxicity. In: Draft report of the OECD workshop on statistical analysis of aquatic toxicity data. Braunschweig, Germany, 15-17 October 1996; Annex 8: 1-21.
- Köster, W. & Merkel, D. (1982). Beziehungen zwischen den Gehalten an Zink, Cadmium, Blei und Kupfer in Böden und Pflanzen bei Anwendung unterschiedlicher Bodenuntersuchungsmethoden. Landwirtschaftliche Forschung, Sonderheft 39: 245-253.
- Kratky, B. A. & Warren, G. F. (1971a). The use of three simple, rapid bioassays on forty-two herbicides. Weed Res. 11: 257-262.
- Kratky, B. A. & Warren, G. F. (1971b). A rapid bioassay for photosynthetic and respiratory inhibitors. Weed Sci. 19 (6): 658-661.
- Krawczynska, W., Pivovarova, N. N. & Sobota, A. (1989). Effects of cadmium on growth, ultrastructure and content of chemical elements in *Tetrahymena pyriformis* and *Acanthamoeba castellanii*. Acta Protozool. 28 (3-4): 245-252.
- Kremer, B. P. (1997). Rindenbewohnende Grünalgen - Leben in Licht und Luft. Mikrokosmos 86 (3): 135-141.
- Kreuger, J. (1998). Pesticides in stream water within an agricultural catchment in southern Sweden, 1990-1996. Sci. Total Environ. 216: 227-251.
- Kühn, R. & Pattard, M. (1990). Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test. Water Res. 24 (1): 31-38.
- Kulshrestha, G. & Singh, S. B. (1995). Fate of isoproturon in soil: a review. Toxicol. Environ. Chem. 48: 195-211.
- Kunert, K.-J. & Böger, P. (1979a). Influence of bleaching herbicides on chlorophyll and carotenoids. Z. Naturforsch. 34c: 1047-1051.
- Kunert, K.-J. & Böger, P. (1979b). Biological systems to assay herbicidal bleaching. Z. Naturforsch. 34c: 1044-1046.
- Lee, K. W. & Bold H. C. (1974). Phycological Studies XII. Characium and some Characium-like algae. Univ. Texas Publ. 7403: 1-127.
- Lee, J. G., Samantha, B. R. & Morel, M. M. (1995). Cadmium: A nutrient for the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. Limnol. Oceanogr. 40 (6): 1056-1063.
- Lefebvre-Drouet, E. & Calvet, R. (1983). Pigment production by green algae as a possible tool for bioanalysis of herbicides. Ber. Fachg. Herbologie 24: 63-71.
- Liang, C. N. & Tabatabai, M. A. (1977). Effects of trace elements on nitrogen mineralisation in soils. Environ. Pollut. 12: 141-147.
- Libbert, E. (1987). Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Gustav Fischer Verlag: Jena.
- Loeppky, C. & Tweedy, B. G. (1969). Effects of selected herbicides upon growth of soil algae. Weed Sci. 17: 110-113.

- Lund, J. W. G. (1962). Soil Algae. Physiology and biochemistry of algae. In: Lewin, R. A. (ed.). Physiology and biochemistry of algae. Academic Press: New York, London; 759-770.
- Maas, G., Pestemer, W. & Krasel, G. (1988). Indirekte Abdrift/Verflüchtigung von Herbiziden von Oberflächen. Z. Pflkrankh. Pflschutz., Sonderheft 11: 249-258.
- Maestrini, S. Y., Droop, M. R. & Bonin, D. J. (1984). Test algae as indicators of sea water quality: Prospects. In: Shubert, L. E. (ed.). Algae as ecological indicators. Academic press Inc.: Orlando, Florida.
- Malkomes, H.-P. (1980). Verhalten von bodenbiologischen Aktivitäten und Pflanzenwuchs bei Nachauflauf-Applikation einer Herbizid-Tankmischung zu Wintergetreide. Z. Pflkrankh. Pflschutz. 87 (10/11): 621-630.
- Maloney, T. E. & Miller, W. E. (1975). Algal Assays: Development and application, water quality parameters, ASTM STP 573. American society for testing and materials, 1916 Race Street, Philadelphia, Pa. 19103; 344-355.
- Mandal, S. (1986). Degradation of isoproturon in soil. M. Sc. Thesis, IARI New Delhi, India.
- Mark, U. & Solbé, J. (1998). Analysis of the ecotox aquatic toxicity (EAT) database V - the relevance of *Daphnia magna* as a representative test species. Chemosphere 36 (1): 155-166.
- Marschner, H. (1986). Mineral nutrition in higher plants. Academic Press Inc.: London.
- Mathes, K., Weidemann, G. & Beck, L. (1991). Indikatoren für Ökosystembelastungen. Berichte aus der Ökologischen Forschung, Band 2. Forschungszentrum Jülich GmbH: Jülich.
- Maykuhs, F. (1982). Pflanzenschutz in Triticale. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 34 (8): 115-118.
- McCann, A. E. & Cullimore, D. R. (1979). Influence of pesticides on the soil algal flora. Residue Rev. 72: 1-31.
- McIntosh, R. M., Robertson, J. & Kirkwood, R. C. (1981). The mode of action and basis of selectivity of isoproturon in wheat, *Avena fatua* L. (wild oats) and *Alopecurus myosuroides* Huds (black grass). Grass weeds in cereals in the U. K. Conference: 247-255.
- Metting, B. (1981). The systematics and ecology of soil algae. Bot. Rev. 47 (2): 195-312.
- Metting, B. (1990). Soil Algae. In: Lunch, J. M. (ed.). The Rhizosphere. John Wiley & Sons: Chichester; 355-368.
- Merian, E. (1991). Metals and their compounds in the environment - occurrence, analysis and biological relevance. VCH-Verlag: Weinheim, New York, Basel, Cambridge.
- Merkel, D. (1996). Vergleichende Untersuchungen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn in Weizenkörnern und Böden nach Extraktion mit $\text{CaCl}_2/\text{DTPA}$ (CAD), CaCl_2 und NH_4NO_3 . Agrobiol. Res. 49 (1): 30-37.
- Merschhemke, Ch. & Regh, W. (1992). Das FluOx-Meßsystem: Ein automatisches Algentestgerät zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). Biologische Testverfahren. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 285-292.
- Meyer-Windel, S., Ketelsen, H. & Widmoser, P. (1997). Zur statistischen Abhängigkeit der Adsorption verschiedener Herbizidwirkstoffe vom Anteil der organischen Substanz in Böden. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 160: 361-368.
- Morselt, A. F. W. (1986). Histochemical demonstration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. Plant Soil 96: 417-420.
- Mouget, J.-L., Dakhama, A., Lavoie, M. C. & Noue, J. (1995). Algal growth enhancement by bacteria: Is consumption of photosynthetic oxygen involved? FEMS Microbiol. Ecol. 18: 35-44.
- Mückenhausen, E. (1974). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag: Frankfurt am Main.

- Mudd, P. J., Greaves, M. P. & Wright, S. J. L. (1985). Effects of isoproturon in the rizosphere of wheat. *Weed Res.* 25: 423-432.
- Musset, B. (1994). Untersuchungen biologischer Systeme am Beispiel der Bodenalgeln zur Beurteilung von Bodenqualität. Diplomarbeit, Freie Universität Berlin, Fachbereich 24 Geowissenschaften, Berlin.
- Neuhaus, W. (1994). Eukaryontische Bodenalgeln - Indikatoren für Nebenwirkungen von Pflanzenschutzmitteln im Boden. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* 301: 513.
- Neuhaus, W. (1999). Ökotoxische Auswirkungen der Applikation von Fenikan (Diflufenican + Isoproturon) in Wintergerste bei unterschiedlicher Bodenbearbeitung, Teil 3: Wirkung auf die Abundanzen von Bodenalgeln. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 51 (8): 197-204.
- Neuhaus, W., Seefeld, F. & Hahn, A. (1997). Auswirkungen von Igran 500 flüssig auf die Abundanz von Bodenalgeln unter Labor- und Freilandbedingungen. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 49: 260-267.
- Nicholls, P. (1994). Physicochemical Evaluation: The Environment - A decision support system for esticide environmental preregistration assessment. Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases - 9 C, 10: 1337-1342.
- Noak, U. & Walter, J. (1992). Das Algentoximeter in der kontinuierlichen Gewässerüberwachung. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 305-309.
- Noak, U. (1992). Biotestprogramme zur Risikobewertung von Sedimenten. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 415-425.
- Noppert, F., Hoeven, N. van der & Leopold, A. (1994). How to measure no effect - towards a new measure of chronic toxicity in ecotoxicology. Workshop report, the Hague, the Netherlands, September 9th 1994, publication of the Netherlands Working Group on Statistics and Ecotoxicology.
- Nusch, E. A. (1977). Beurteilung der biologischen Schadwirkungen organischer Komplexbildner und Komplexe aufgrund toxikologischer Testverfahren mit Bakterien, Algen, Protozoen, niederen Metazoen und Fischen. *Z. Wasser Abwasser Forsch.* 10 (2): 49-61.
- Nusch, E. A. (1989). Bedeutung experimenteller ökologischer Daten für die Bewertung von Umweltchemikalien. In: Heitefuss, R. (Hrsg.). *Beurteilung von Pflanzenschutzmitteln in aquatischen Ökosystemen*. Deutsche Forschungsgemeinschaft. VCH-Verlag: Weinheim, Basel.
- Nusch, E. A. (1993). Biologische Testverfahren - Aussagekraft und Grenzen der Übertragbarkeit. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotoxikol.* 5 (3): 155-161.
- Nyffeler, A., Gerber, H.-R., Hurle, K., Pestemer, W. & Schmidt, R. R. (1982). Collaborative studies of dose-response curves obtained with different bioassay methods for soil-applied herbicides. *Weed Res.* 22: 213-222.
- Oberhollenzer, H. & Wirth, V. (1995). Epiphytische Flechten - Einsatz als Reaktionsindikatoren bei der Erstellung von Immissionswirkungskataster. *Z. Umweltchem. Ökotoxikol.* 7 (3): 179-181.
- OECD Guideline for testing of chemicals, No 201. *Alga, Growth Inhibition Test*: Paris (1984).
- OECD Guideline for testing of chemicals, No 207. *Earthworm, Acute Toxicity Test*: Paris (1984).
- Oesterreicher, W. (1988). Quantitative Erfassung der Bodenalgelflora mit dem Fluoreszenzmikroskop. *Leitz Mitt. u. Techn.* IX (3): 112-116.

- Oesterreicher, W. (1990). Ökologische Bedeutung der Algen im Boden. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 42 (8): 122-126.
- Pack, S. (1993). A review of statistical data analysis and experimental design in OECD aquatotoxicity test guidelines. Shell Research Ltd., Sittingbourne Centre: Sittingbourne, Kent.
- Pantani, O. L., Dousset, S., Schiavon, M. & Fusi, P. (1997). Adsorption of isoproturon on homoinic clays. *Chemosphere* 35 (11): 2619-2626.
- Pantera, H. (1970). The effect of herbicides on algae in the soil. *Meded. Fac. Landbouwwet. Rijkuniv. Gent* 35 (2): 847-855.
- Pascoe, D., Evans, S. A. & Woodworth, J. (1986). Heavy metal toxicity to fish and the influence of water hardness. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 481-487.
- Paterson, D. M. & Wright, J. L. (1987). A continuous-flow model ecosystem for studying effects of herbicides in aquatic plants. *Weed Sci.* 35: 704-710.
- Pattard, M. & Pernak, K.-D. (1992). NOEC-Werte aus dem 21 d-Daphnientest im Vergleich zum akuten Daphnientest und zum Scenedesmus-Zellvermehrungshemmtest. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 99-108.
- Pederson, C. L. & Shubert, E. (1992). Use of membrane filters for soil algal bioassay. *J. Appl. Phycol.* 4: 49-56.
- Perkow, W. & Ploss, H. (1992). *Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel*. 3. Aufl. Erg. Lfg., Paul Parey Verlag: Berlin.
- Perrin-Ganier, C., Breuzin, C., Portal, J.-M. & Schiavon, M. (1996). Availability and persistence of isoproturon under field and laboratory conditions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 35: 226-230.
- Pestemer, W. (1979). Biological determination of photosynthetic inhibitors in soil and water and application of bioassays to herbicide investigations. *Z. Naturforsch.* 34c: 964-965.
- Pestemer, W. (1996). Beispiele von ECx-Auswertungen - Pflanzen. In: Joermann, G., Köpp, H. & Kula, C. (Hrsg.). *Fachgespräch zur Statistik in der Ökotoxikologie*. Berichte a. d. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtschaft, Heft 17; 21-24.
- Pestemer, W., Auspurg, B. & Günther, P. (1988). Vergleich des OECD-Entwurfes „Terrestrial Plant Growth Test“ mit Ergebnissen aus Freilandversuchen. In: Verfondern, M. & Scheele, B. (Hrsg.). *Methoden zur ökotoxikologischen Bewertung von Chemikalien*. Band 11: *Terrestrische Systeme*, Jül-Spez.-441, Kernforschungsanlage Jülich GmbH: Jülich; 94-109.
- Pestemer, W. & Günther, P. (1993). No-Observable-Effect Level (NOEL). In: Streibig, J. C. & Kudsk, P. (eds.). *Herbicide bioassays*. CRC Press: Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo; 137-152.
- Pestemer, W. & Günther, P. (1997). Computergestütztes Nachzulassungsmonitoring von Pflanzenschutzmitteln im Boden. In: Krasel, G., Pestemer, W. & Bartels, G. (Hrsg.). *Strategien zum Bodenschutz in der pflanzlichen Produktion - Pflanzenschutz-kolloquium am 13. und 14. November 1995 in Braunschweig*. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. 328: 163-176.
- Pestemer, W. & Pucelik-Günther, P. (1997). Standardized bioassay for the determination of ED₁₀- (NOEL) and ED₅₀-values for herbicides and selected following crops in soil. *Berichte a. d. Biol. Bundesanst. Land- und Forstw.* 29.
- Pestemer, W. & Pucelik-Günther, P. (1999). Vergleich dreier Biotest-Methoden zur Ermittlung des No-Observable-Effect Levels (ED 10) und weiterer Kenndaten der Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen dem Herbizid Clomazone und ausgewählten Nachbaukulturen im Boden. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 51 (2): 32-37.
- Pfister, K., Rodozevich, S. R. & Arntzen, C. J. (1979). Modification of herbicide binding to photosystem II in two biotypes of *Senecio vulgaris*. *Plant Physiol.* 64: 995-999.

- Pflanzenschutzgesetz - PflSchG (1986). Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen vom 15. September 1986 (BGBl. I S. 1505).
- Pflanzenschutzgesetz - PflSchG (1998). Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen vom 14. Mai 1998 (BGBl. I S. 950), Bekanntmachung der Neufassung vom 14. Mai 1998 (BGBl. I S. 971), geändert durch: ÄndG. 16. Juni 1998 (BGBl. I S. 1527).
- Pflanzenschutzmittelverzeichnis Teil I (1996 & 1997). Ackerbau - Wiesen und Weiden - Hopfenbau, Sonderkulturen - Nichtkulturland. Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Saphir Verlag: Ribbesbüttel.
- Pickering, Q. H. & Henderson, C. (1966). The acute toxicity of some heavy metals to different species of warmwater fish. *Int. J. Air Water Pollut.* 10: 453-463.
- Pillay, A. R. & Tchan, Y. T. (1972). Study of soil algae - VII. Adsorption of herbicides in soil and prediction of their rate of application by algal methods. *Plant Soil* 36: 571-594.
- Pipe, E. (1992). Pesticide effects on soil algae and cyanobacteria. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 127: 95-170.
- Pipe, A. E. & Cullimore, D. R. (1980). An implanted slide technique for examining the effects of the herbicide diuron on soil algae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 306-312.
- Rai, L. C. & Mallick, N. (1993). Heavy metal toxicity to algae under synthetic microcosm. *Ecotoxicology* 2: 231-242.
- Rainer, K. & Burkhard, O. W. (1991). Umweltchemikalien. 12. Erg. Lfg., Trinkwasserverordnung. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech.
- Reese-Stähler, G., Pestemer, W. & Pallutt, B. (1999). Ökotoxische Auswirkungen der Applikation von Fenikan (Diflufenican + Isoproturon) in Wintergerste bei unterschiedlichen Bodenbearbeitungen - Teil 1: Allgemeine Angaben zur Versuchsdurchführung und Rückstandsverhalten von Diflufenican und Isoproturon unter dem Einfluß verschiedener Bodenbearbeitungsmaßnahmen. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzkd.* 51: 176-184.
- Reisigl, H. (1964). Zur Systematik und Ökologie alpiner Bodenalgae. *Österr. Bot. Z.* 111: 402-499.
- Richardson, M. (1993). *Ecotoxicology monitoring*. VCH-Verlag: Weinheim.
- Richtlinie 91/414/EWG des Rates vom 15. Juli (1991) über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 230/1 vom 19. August 1991.
- Riepert, F. (1998). Ökotoxikologische Testverfahren für die Prüfung der Bodenqualität am Beispiel aktueller Richtlinien mit Organismen der Bodenfauna. In: Renger, M., Alaily, F. & Wessolek, G. (Hrsg.). *Bodenökologie und Bodengenese, Mobilität und Wirkung von Schadstoffen in urbanen Böden*. Technische Universität Berlin, Selbstverlag, 26: 108-119.
- Riepert, F. & Kula, C. (1996). Development of laboratory methods for testing effects of chemicals and pesticides on Collembola and earthworms. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* 320.
- Rippen, G. (1991). *Handbuch Umweltchemikalien. Stoffdaten - Prüfverfahren - Vorschriften*. Trinkwasserverordnung 12. Erg. Lfg. 10/91. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech.
- Roane, T. M. & Kellogg, S. (1996). Characterization of bacterial communities in heavy metal contaminated soils. *Can. J. Microbiol.* 42: 593-603.
- Rönnpapel, K., Liß, W. & Ahlf, W. (1995). Microbial bioassays to assess the toxicity of solid-associated contaminants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31: 99-103.
- Rönnpapel, K., Janßen, E. & Ahlf, W. (1998). Asking for the indicator of bioassays evaluating soil contamination: Are bioassay results reasonable surrogates of effects on soil microflora? *Chemosphere* 36 (6): 1291-1304.
- Round, F. E. (1981). *The ecology of algae*. Cambridge University press: Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney.

- Rudolph, P. & Boje, R. (1986). Ökotoxikologie. Beurteilung von Umweltgefährdungen nach dem Chemikaliengesetz. Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech.
- Salt, C. (1988). Schwermetalle in einem Rieselfeld-Ökosystem. Landschaftsentwicklung und Umweltforschung. Schriftenreihe des Fachbereiches Landschaftsentwicklung der TU Berlin Nr. 53, Berlin: Fachbereich 14 Landschaftsentwicklung der TU.
- Sandifer, R. D. & Hopkin, S. P. (1996). Effects of pH on the toxicity of cadmium, copper, lead, and zinc to *Folsomia candida* Willem, 1902 (Collembola) in a standard laboratory test system. *Chemosphere* 33 (12): 2475-2486.
- Sauthoff, W. & Oesterreicher, W. (1994). Untersuchungen über den Einfluß einer intensiven Pflanzenproduktion auf die Zusammensetzung der Bodenalgengflora. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* 295: 167-191.
- Schäfer, H., Hettler, H., Fritsche, U., Pitzen, G., Röderer, G. & Wenzel, A. (1994). Biotests using unicellular algae and ciliates for predicting long-term effects of toxicants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 27: 64-81.
- Scheffer, F. & Schachtschabel, P. (1992). Lehrbuch der Bodenkunde. Ferdinand Enke Verlag, 13. Aufl.: Stuttgart.
- Schelhorn, M. (1936). Zur Ökologie und Biologie der Erdalgen. *Naturwissenschaft und Landwirtschaft*, Heft 18, Verlag Dr. F. P. Datterer & Cie: Freising - München.
- Schlegel, H. G. (1985). Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York.
- Schlösser, H. J. (1988). Auswertung ökotoxikologischer Forschungen zur Belastung von Ökosystemen durch Chemikalien. Projektleitung Biologie, Ökologie, Energie (PBE) der Kernforschungsanlage Jülich GmbH: Jülich.
- Schultz, R. & Mayer, R. (1987). Schwermetallbilanzen von Blei und Cadmium auf Sand- und Lößböden norddeutscher Waldstandorte. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 55 (1): 427-432.
- Seiden, P., Kappel, D. & Streibig, J. C. (1998). Response of *Brassica napus* in tissue culture to metsulfuron-methyl and chlorsulfuron. *Weed Res.* 38: 221-228.
- Sellner, M. & Dau, U. (1992). Erfahrungen mit biologischen Wirkungstesten bei der Untersuchung von Bodenverunreinigungen. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.-D. (Hrsg.). *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart; 437-449.
- Shizhong, T., Zan, L., Jianhua, W. & Youngyuan, Z. (1997). Growth of *Chlorella vulgaris* in cultures with low concentration dimethoate as source of phosphorus. *Chemosphere* 35 (11): 2713-2718.
- Shubert, L. E. (1984). Algae as ecological indicators. Academic Press, Inc.: Orlando, Florida.
- Shubert, L. E. & Pederson, C. L. (1986). Interactions of metals with eco-physiological processes of soil algae: A conceptual view. *Proc. IV ISME*: 332-336.
- Simonis, W. (1987). Primärvorgänge bei der Sorption von Schwermetallen, Insektiziden und Herbiziden in die Anfangsglieder von Nahrungsketten. In: Lillielund, K., de Haar, U., Elster, H.-J., Karbe, L., Schwoerbel, I. & Simonis, W. (Hrsg.). *Bioakkumulation in Nahrungsketten - Zur Problematik der Akkumulation von Umweltchemikalien in aquatischen Systemen. Ergebnisse aus dem Schwerpunktprogramm „Nahrungskettenprobleme“*. Forschungsbericht der Deutschen Forschungsgemeinschaft, VCH-Verlag: Weinheim; 9-38.
- Sloof, W., van Oers, J. A. M. & de Zwart, D. (1986). Margins of uncertainty in ecotoxicological hazard assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 841-852.
- Sorbe, W. (1983). Sicherheitstechnische Kenndaten chemischer Stoffe. Ecomed-Verlag, 2. vollst. neubearb. Aufl.: Landsberg/Lech.
- Sorbe, W. (1988). Sicherheitstechnische Kenndaten chemischer Stoffe. Ecomed-Verlag, 7. Erg.-Lfg. 4/88: Landsberg/Lech.

- Spurgeon, D. J. & Hopkin, S. P. (1995). Extrapolation of the laboratory-based OECD earthworm toxicity test to metal-contaminated field sites. *Ecotoxicology* 4: 190-205.
- Stähler, M. (1998). Modifizierter Algeninhibitionstest. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* 357: 398-399.
- Stalder, L. & Pestemer, W. (1980). Availability to plants of herbicide residues in soil. Part I: A rapid method for estimating available residues of herbicides. *Weed Res.* 20: 341-347.
- Starr, R. C. (1973). Special methods - dry soil samples. In: Stein, J. R. (ed.). *Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements*. Cambridge university press: Cambridge; 159-167.
- Steinberg, C., Kern, J., Pitzen, G., Traunsburger, W. & Geyer, H. (1992). Biomonitoring in Binnengewässern - Grundlagen der biologischen Überwachung organischer Schadstoffe für die Praxis des Gewässerschutzes. *Ecomed-Verlag: Landsberg/Lech*.
- Stellmacher, G. (1993). Diplomarbeit. Entwicklung von Methoden zur quantitativen Isolierung von Algen im Boden und deren Anwendung zur Charakterisierung verschiedener Ökosysteme. *Institut für Pflanzenphysiologie der Georg-August-Universität Göttingen*.
- Stina, E. A. (1969). Über die Verbreitung und ökologische Bedeutung der Algen in Ackerböden. *Pedobiologia* 9: 226-242.
- Streibig, J. C., Walker, A., Blair, A. M., Anderson-Taylor, G., Eagle, D. J., Friedländer, H., Hacker, E., Iwanzik, W., Kudsk, P., Labhart, C., Luscombe, B. M., Madafiglio, G., Nel, P. C., Pestemer, W., Rahman, A., Retzlaff, G., Rola, J., Stefanovic, L., Straathof, H. J. M. & Thies, E. P. (1995). Variability of bioassays with metsulfuron-methyl in soil. *Weed Res.* 35: 215-224.
- Streit, B. (1991). *Lexikon Ökotoxikologie*. VCH-Verlag: Weinheim, New York, Basel, Cambridge.
- Thomas, J. M., Skalski, J. R., Cline, J. F., Mc Shane, M. C., Miller, W. E., Peterson, S. A., Callahn, C. A. & Greene, J. C. (1986). Characterization of chemical waste site contamination and determination of its extent using bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 487-501.
- Torsvik, V., Goksoy, J. & Daae, F. L. (1990). High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 782-787.
- Trainor, F. R. (1984). Indicator algal assays: Laboratory and field approaches. In: Shubert, L. E. (ed.). *Algae as ecological indicators*. Academic press Inc.: Orlando, Florida.
- Traunsburger, W., Steinberg, C. & Bongers, T. (1995). Nematoden in der ökotoxikologischen Forschung - Plädoyer für eine vernachlässigte, jedoch sehr aussagekräftige Tiergruppe. *Z. Umweltchem. Ökotoxikol.* 7: 74-83.
- VDLUFA-Methodenhandbuch (1991). *Die Untersuchung von Böden. Band I*. VDLUFA-Verlag: Darmstadt.
- VDLUFA-Methodenhandbuch (1997). *Die Untersuchung von Böden. Band I, 2. Teillieferung*. VDLUFA-Verlag: Darmstadt.
- Vischer, W. (1939). Die Kultur der Heterokonten. In: Pascher, A. (Hrsg.). *Heterokonten. Rabenhorst's Kryptogamenflora, Bd. 11*. Akad. Verlagsges: Leipzig; 190-202.
- Vischer, W. (1945). Heterokonten aus alpinen Böden, speziell dem schweizerischen Nationalpark. Separatabdruck aus: *Tiré à part des: Ergebnisse der wissenschaftlichen Untersuchung des schweizerischen Nationalparks*. Herausgegeben von der Kommission des S. N. G. zur wissenschaftlichen Untersuchung des Nationalparks. Verlag H. R. Sauerländer & Co.: Aarau.
- Wagner, C. & Løkke, H. (1991). Estimation of ecotoxicological protection levels from NOEC toxicity data. *Water Res.* 25 (10): 1237-1242.

- Weintraut, T. (1943). Zur Kenntnis der Erdalgen. Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule München, Abteilung landwirtschaftliche und alpine Botanik. Verlag der Bayerischen Akademie der Wissenschaften. Sonderdruck aus dem Jahrg. 1934: München.
- Weitz, A., Bunte, D. & Hersemann, H. (1993). Application of nested sampling technique to determine the scale of variation in soil physical and chemical properties. CATENA 20, 207-214.
- Welp, G. & Brümmer, G. W. (1988). Ermittlung des Non-Effect-Levels und weiterer Toxizitätskennwerte von Umweltchemikalien für verschiedene Böden mit Hilfe eines Mikroorganismen-tests. In: Verfondern, M. & Scheele, B. (Hrsg.). Methoden zur ökotoxikologischen Bewertung von Chemikalien, Band 11: Terrestrische Systeme, Jül-Spez.-441, Kernforschungsanlage Jülich GmbH: Jülich; 27-55.
- Wiedman, S. J. & Appleby, A. P. (1972). Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. Weed Res. 12: 65-74.
- Wilke, B. M. (1991). Einfluß verschiedener Bodeneigenschaften auf die mikrobielle Toxizität. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 154: 417-424.
- Wischnik, A. (1981). Ökologisches Stoffgebiet nach dem Gegenstandskatalog für den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Mediscript-Verlag: München.
- Wöhler, I., Klaß, S., Derakshani, M., Stellmacher, G., Winter, J.-U. & Reißer, W. (1998). The occurrence of terrestrial algae on two beech sites on a cambisol. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 161: 31-34.
- Wright, S. J. L. (1975). A simple agar plate method, using micro-algae, for herbicide bioassay or detection. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14 (1): 65-70.
- Yanase, D., Andoh, A. & Chiba, M. (1993). Chlorophyll fluorescence applied in the analysis on vertical movement of herbicides in soil. Z. Naturforsch. 48c: 397-401.
- Zimmerman, W. J. (1993). Microalgal biotechnology and applications in agriculture. In: Metting Jr., F. B. (ed.). Soil microbial ecology - applications in agriculture and environmental management. Marcel Dekker Inc.: New York, Basel, Hong Kong; 457-479.
- Zimmermann, R.-D. (1996). Begriffsdefinitionen zur Bioindikation. UWSF - Z. Umweltchem. Ökotoxikol. 8 (3): 169-171.
- Mündliche Mitteilungen:
- Pestemer, W. (1999). Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für ökologische Chemie, Berlin.
- Schmidt, H.-H. (1999). Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik, Außenstelle Kleinmachnow.
- Traulsen, B.-D. (1999). Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für ökologische Chemie, Berlin.

9 ANHANG (DATEN)

Isolierungsversuch von schwermetallhaltigen Böden, Bodenanalytik

Tab. A1: Bodenanalytik, Schwermetallversuch 1995, zwei Tiefen (0 cm bis 1 cm und 0 cm bis 5 cm), Gesamtschwermetallgehalte und weitere Bodenelemente (Königswasseraufschluß) für blei- und cadmiumbelastete Bodenparzellen; erhöhte Schwermetallkonzentrationen sind grau unterlegt.

Probe/Tiefe	Hg	Cd	Pb	Zn	Cr	Co	Ni	Cu	Mn	Fe	V	B	K	Ca	Mg	P	As
Gesamtgehalte in mg/kg TS Boden																	
K I /1/0-1	0,06	5,8	30	109	11,0	3,8	8,7	23,0	392	8871	20,0	2,8	1666	2598	1215	1062	2,4
K I /1/0-5	0,06	6,3	30	115	11,0	4,0	8,4	21,0	430	9434	20,0	4,3	1683	2967	1301	1053	n.g.
K I /2/0-1	0,11	6,3	29	148	12,0	4,1	9,0	19,0	445	10635	20,0	4,4	1793	3564	1321	1171	2,4
K I /2/0-5	0,11	7,0	31	151	12,0	4,1	9,0	19,0	487	9811	20,0	2,7	1798	4297	1387	1014	n.g.
K r /1/0-1	0,07	5,4	27	106	11,0	3,6	9,4	22,0	411	8704	19,0	3,1	1733	2875	1198	1027	2,3
K r /1/0-5	0,07	5,9	28	100	11,0	3,4	9,1	19,0	392	7410	18,0	2,0	1589	2133	1153	887	n.g.
K r /2/0-1	0,06	6,5	30	113	18,0	4,0	9,3	24,0	405	11400	21,0	3,1	1799	3167	1353	927	1,9
K r /2/0-5	0,05	6,7	34	108	18,0	3,8	9,1	21,0	390	10700	20,0	3,1	1696	2728	1337	833	n.g.
Cd I /1/0-1	0,06	44,2	31	113	11,0	3,7	7,9	21,0	400	10039	19,0	2,5	1646	2805	1247	1005	1,9
Cd I /1/0-5	0,07	46,3	30	109	12,0	4,2	8,3	22,0	416	10565	20,0	2,6	1650	2872	1240	888	n.g.
Cd I /2/0-1	0,06	40,4	30	147	12,0	3,9	8,5	22,0	394	10009	20,0	2,9	1468	3679	1270	1121	1,9
Cd I /2/0-5	0,05	39,8	28	127	11,0	3,7	8,1	23,0	376	10754	20,0	3,5	1450	2340	1235	879	n.g.
Cd II /1/0-1	0,20	169,0	28	138	12,0	3,6	8,8	23,0	373	10610	21,0	3,2	1690	2722	1271	1251	2,4
Cd II /1/0-5	0,22	181,0	29	128	13,0	4,0	9,5	28,0	382	12540	23,0	3,0	1658	3044	1387	954	n.g.
Cd II /2/0-1	0,09	146,0	28	121	12,0	3,5	7,5	22,0	341	9538	20,0	2,8	1513	3307	1188	1122	2,4
Cd II /2/0-5	0,09	169,0	29	127	12,0	4,0	8,6	25,0	370	10860	23,0	2,1	1590	3235	1244	956	n.g.
Pb I /1/0-1	0,04	6,5	903	109	12,0	4,0	8,3	22,0	470	10771	22,0	2,4	1491	3151	1258	911	2,9
Pb I /1/0-5	0,06	7,1	951	113	12,0	4,2	8,8	20,0	389	10423	21,0	3,2	1529	2618	1247	794	n.g.
Pb I /2/0-1	0,05	6,3	956	150	12,0	4,1	8,6	21,0	426	10618	21,0	4,2	1603	3386	1320	1092	2,4
Pb I /2/0-5	0,05	5,9	905	129	11,0	3,4	7,4	16,0	371	9710	20,0	3,0	1409	2100	1154	846	n.g.
Pb II /1/0-1	0,04	5,6	3267	124	12,0	4,0	8,8	21,0	404	10373	22,0	4,5	1559	3815	1340	1148	4,5
Pb II /1/0-5	0,05	6,2	3890	131	12,0	4,0	8,1	24,0	411	10390	19,0	5,4	1566	4471	1370	1126	n.g.
Pb II /2/0-1	0,03	5,4	3189	128	12,0	3,9	8,5	21,0	404	10157	21,0	3,2	1555	3915	1334	1255	3,3
Pb II /2/0-5	0,03	5,8	3329	133	11,0	3,7	7,9	20,0	389	9968	20,0	3,3	1452	3107	1291	1055	n.g.

Tab. A2: Bodenanalytik; Schwermetallversuch 1995, zwei Tiefen (0 cm bis 1 cm und 0 cm bis 5 cm), Daten des CaCl_2 -Aufschlusses, des Wassergehaltes, der organischen Substanz (o. S.) und des pH-Wertes (CaCl_2). Erhöhte Schwermetallkonzentrationen sind grau unterlegt; Quecksilber und Arsen wurden aufgrund des geringen Gesamtgehaltes nicht vermessen.

	W_W	Cd	Pb	Zn	Cr	Co	Ni	Cu	Mn	Fe	V	B	K	Mg	P	o. S.	pH
Probe/Tiefe	%	CaCl ₂ – extrahierbare Anteile in mg/kg TS Boden														%	
K I /1/0-1	7,5	0,53	0,00	2,00	0,01	0,00	0,02	0,19	4,90	0,03	0,02	0,19	184,0	46,0	14,0	2,82	5,7
K I /1/0-5	8,6	0,69	0,00	3,20	0,01	0,00	0,03	0,17	5,20	0,02	0,01	0,11	148,0	37,0	11,0	2,77	5,4
K I /2/0-1	9,2	0,25	0,00	0,90	0,01	0,00	0,02	0,21	0,80	0,00	0,01	0,10	125,0	55,0	8,0	2,94	6,3
K I /2/0-5	10,5	0,40	0,00	2,50	0,01	0,00	0,01	0,22	0,70	0,02	0,01	0,08	119,0	44,0	9,0	2,69	5,8
K r /1/0-1	9,0	0,71	0,00	3,00	0,01	0,00	0,05	0,21	9,60	0,10	0,01	0,11	195,0	42,0	14,0	2,80	5,5
K r /1/0-5	9,5	1,04	0,00	5,20	0,00	0,01	0,08	0,09	8,60	0,09	0,01	0,11	146,0	33,0	11,0	2,60	5,2
K r /2/0-1	9,3	0,53	0,00	1,40	0,00	0,00	0,03	0,11	4,20	0,00	0,01	0,14	185,0	47,0	11,0	2,70	5,8
K r /2/0-5	10,7	0,72	0,00	2,70	0,00	0,00	0,04	0,12	3,90	0,00	0,02	0,12	149,0	38,0	10,0	2,55	5,5
Cd I /1/0-1	9,1	3,60	0,00	1,20	0,01	0,00	0,03	0,08	2,40	0,00	0,02	0,09	144,0	43,0	13,0	2,67	5,9
Cd I /1/0-5	10,7	6,94	0,10	4,30	0,00	0,01	0,05	0,22	6,50	0,06	0,00	0,13	146,0	31,0	10,0	2,48	5,1
Cd I /2/0-1	10,0	2,00	0,10	1,10	0,00	0,00	0,02	0,22	1,00	0,04	0,02	0,10	128,0	53,0	11,0	2,48	6,2
Cd I /2/0-5	10,1	4,91	0,10	4,40	0,00	0,00	0,05	0,19	1,80	0,04	0,01	0,10	121,0	36,0	9,0	2,24	5,4
Cd II /1/0-1	9,1	11,96	0,00	1,10	0,00	0,00	0,03	0,23	1,80	0,02	0,02	0,07	188,0	49,0	14,0	2,50	6,0
Cd II /1/0-5	10,6	23,70	0,10	3,60	0,00	0,01	0,04	0,24	2,70	0,03	0,00	0,07	144,0	37,0	12,0	2,44	5,4
Cd II /2/0-1	9,3	8,70	0,00	0,70	0,00	0,01	0,01	0,24	0,90	0,02	0,02	0,10	144,0	50,0	14,0	2,93	6,1
Cd II /2/0-5	10,3	17,30	0,10	2,40	0,01	0,02	0,02	0,20	0,90	0,06	0,00	0,09	133,0	37,0	11,0	2,57	5,6
Pb I /1/0-1	9,7	0,48	0,20	1,50	0,00	0,02	0,02	0,25	2,80	0,00	0,00	0,12	125,0	47,0	9,0	2,84	5,8
Pb I /1/0-5	11,0	0,55	0,30	2,20	0,01	0,02	0,03	0,16	1,00	0,07	0,00	0,09	109,0	38,0	8,0	2,76	5,5
Pb I /2/0-1	8,7	0,54	0,20	2,50	0,01	0,02	0,03	0,14	4,00	0,01	0,00	0,15	160,0	47,0	11,0	2,98	5,8
Pb I /2/0-5	12,1	0,91	0,30	6,20	0,00	0,00	0,05	0,11	6,20	0,00	0,00	0,11	141,0	32,0	10,0	2,88	5,1
Pb II /1/0-1	9,3	0,44	0,30	1,80	0,00	0,00	0,02	0,14	3,80	0,02	0,00	0,14	149,0	53,0	12,0	3,70	5,6
Pb II /1/0-5	11,8	0,51	0,50	2,20	0,00	0,00	0,02	0,10	1,50	0,00	0,00	0,09	127,0	43,0	7,0	3,06	5,6
Pb II /2/0-1	9,8	0,34	0,30	1,40	0,00	0,00	0,03	0,16	3,20	0,00	0,00	0,13	154,0	54,0	12,0	3,38	5,8
Pb II /2/0-5	11,4	1,19	1,30	5,90	0,00	0,00	0,05	0,38	2,80	0,08	0,00	0,24	305,0	107,0	17,0	3,20	5,6

Tab. A3: Bodenanalytik, Schwermetallversuch 1996. Die mit * gekennzeichneten Werte sind errechnete Mittelwerte aus den jeweiligen vier Einzelwerten. Die Werte der organischen Substanz, die mit ** gekennzeichnet sind, wurden mit dem Elementaranalysator als „Kohlenstoff organisch“ (C_{org}-2) gemessen. Einige Untersuchungen konnten nur für die Mischproben durchgeführt werden, da die Untersuchungen zu kostenintensiv waren. Werte der Leitfähigkeit, organische Substanz (org. Sub.) und Wassergehalt (Ww) sind Doppelbestimmungen

Belastungsstufe/ Parzelle	Leitfähig- keit in µS	N-Gesamt in mg/kg TS Boden	N-min-105 °C in mg/kg TS Boden	C/N	org. Sub. in %	Ww in %	pH- CaCl ₂
Kontrolle /1-4	48,5	1 086	s. K I /2-3	13,3	2,88**	11,70	5,8
Cadmium I /1-4	50,0	952	/	12,8	2,44**	11,1*	5,8
Cadmium II /1-4	48,0	1 060	s. Cd II / 2-3	12,8	2,72**	10,7*	5,8
Blei I /1-4	46,5	1 068	/	13,4	2,86**	11,5*	5,8
Blei II /1-4	46,0	1 198	/	13,9	3,32**	13,1*	5,9
K I /1	48,0	/	/	/	2,84	11,04	5,6
K I /2	48,0	/	541	/	2,94	11,90	5,8
K I /3	52,0	/	509	/	2,96	11,89	5,8
K I /4	47,5	/	/	/	2,78	11,97	5,8
Cd I /1	52,5	/	/	/	2,80	10,02	5,7
Cd I /2	49,0	/	/	/	2,50	11,37	6,0
Cd I /3	51,0	/	/	/	2,68	12,11	5,7
Cd I /4	50,5	/	/	/	2,66	11,20	5,8
Cd II /1	52,0	/	/	/	2,82	9,57	5,6
Cd II /2	49,5	/	389	/	2,78	12,04	5,9
Cd II /3	51,0	/	491	/	2,88	10,66	5,9
Cd II /4	51,5	/	/	/	2,72	10,88	5,7
Pb I /1	49,5	/	/	/	2,94	10,93	5,9
Pb I /2	47,0	/	/	/	2,88	11,87	5,8
Pb I /3	48,0	/	/	/	2,80	11,52	5,8
Pb I /4	49,0	/	/	/	2,90	11,68	5,8
Pb II /1	47,5	/	/	/	3,50	12,33	5,9
Pb II /2	49,0	/	/	/	3,62	13,93	5,9
Pb II /3	48,5	/	/	/	3,46	13,39	5,9
Pb II /4	46,0	/	/	/	3,48	13,12	5,9

Isolierungsversuch von schwermetallhaltigen Böden, Algenabundanzen

Tab. A4: Schwermetallversuch 1995, gezählte Kolonien pro Petrischale, Mittelwerte (MW) von jeweils acht Petrischalen und Standardabweichung. Je Petrischale wurden 50 µl (Tiefe: 0 cm bis 1 cm) und 100 µl (Tiefe: 0 cm bis 5 cm) Bodenlösung (5,0 g naturfeuchte Erde auf 250 ml BBM) aufgebracht; Algen ohne Kieselalgen (A o. K.), Kieselalgen (K), Cyanobakterien (C).

Bodenprobe /Tiefe	Algen- gruppe	Petrischalen								Mittel- wert	Standard- abweichung
		1	2	3	4	5	6	7	8		
K 1/1/0-1	A o. K	1 300	1 246	1 233	1 377	1 227	1 139	1 336	1 123	1 247,6	88,9
	K	122	106	103	93	106	105	122	74	103,8	15,5
	C	4	6	3	3	2	6	5	2	3,9	1,6
K 1/1/0-5	A o. K	891	889	820	858	983	823	1 045	1 022	916,4	88,6
	K	106	85	85	94	109	76	131	71	94,6	19,8
	C	4	3	5	3	3	2	4	2	3,3	1,0
K 1/2/0-1	A o. K	1 277	1 275	1 369	1 371	1 407	1 323	1 211	1 096	1 290,9	101,2
	K	125	120	117	108	112	114	118	70	110,3	17,1
	C	6	5	6	2	0	4	4	1	3,5	2,3
K 1/2/0-5	A o. K.	786	680	786	865	888	985	867	687	818,0	104,0
	K	66	62	71	78	54	79	72	63	68,1	8,5
	C	2	2	5	1	2	1	2	3	2,3	1,3
K r /1/0-1	A o. K	1 209	1 039	1 234	1 115	1 178	1 066	1 268	1 133	1 155,3	81,0
	K	241	205	242	193	207	185	247	117	204,6	42,6
	C	3	2	8	1	2	3	4	1	3,0	2,3
K r /1/0-5	A o. K	827	881	801	858	897	861	865	898	861,0	33,5
	K	138	165	163	146	145	142	153	187	154,9	16,2
	C	1	1	1	1	5	1	2	1	1,6	1,4
K r /2/0-1	A o. K	1 176	1 081	1 008	925	922	990	928	969	999,9	89,1
	K	158	178	164	138	121	113	107	113	136,4	27,1
	C	3	3	4	0	2	3	2	4	2,6	1,3
K r /2/0-5	A o. K.	829	700	694	751	826	856	760	847	782,9	65,2
	K	50	53	59	52	52	49	50	59	53,0	3,9
	C	1	0	2	2	1	1	0	0	0,9	0,8
Cd I /1/0-1	A o. K	1 634	1 348	1 545	1 674	1 691	1 577	1 530	1 477	1 559,5	112,7
	K	142	125	129	120	138	155	157	91	132,1	21,3
	C	2	2	7	3	3	4	2	2	3,1	1,7
Cd I /1/0-5	A o. K	767	865	928	790	845	717	963	731	825,8	90,0
	K	60	62	62	57	53	72	58	42	58,3	8,6
	C	4	2	2	3	3	1	2	2	2,4	0,9
Cd I /2/0-1	A o. K	1 712	1 606	1 505	1 679	1 567	1 628	1 525	1 521	1 592,9	76,7
	K	98	122	119	127	102	120	104	80	109,0	15,8
	C	3	2	2	3	1	2	4	2	2,4	0,9
Cd I /2/0-5	A o. K.	841	757	830	800	867	701	794	640	778,8	76,3
	K	55	58	48	58	41	47	40	40	48,4	7,8
	C	4	2	7	3	3	2	1	1	2,9	2,0

Fortsetzung Tab. A4

Bodenprobe /Tiefe	Algen- gruppe	Petrischalen								Mittel- wert	Standard- abweichung
		1	2	3	4	5	6	7	8		
Cd II /1/0-1	A o. K	1 554	1 354	1 463	1 376	1 295	1 538	1 505	1 437	1 440,3	92,5
	K	134	162	171	186	190	198	179	170	173,8	19,9
	C	1	1	0	1	3	1	1	3	1,4	1,1
Cd II /1/0-5	A o. K	1 368	1 193	1 239	1 285	1 136	1 286	1 265	1 165	1 242,1	75,4
	K	139	106	125	112	136	103	140	82	117,9	20,7
	C	3	0	0	0	1	2	0	1	0,9	1,1
Cd II /2/0-1	A o. K	1 698	1 705	1 817	1 727	1 588	1 773	1 638	1 687	1 704,1	71,9
	K	110	77	90	104	88	95	87	93	93,0	10,3
	C	0	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0,4
Cd II /2/0-5	A o. K.	1 587	1 464	1 545	1 599	1 564	1 532	1 404	1 344	1 504,9	91,9
	K	89	85	97	76	103	100	93	92	91,9	8,7
	C	1	0	0	1	1	1	1	0	0,6	0,5
Pb I /1/0-1	A o. K	898	762	762	823	821	840	878	956	842,5	66,6
	K	178	132	171	178	153	193	190	197	174,0	22,0
	C	4	0	1	2	0	0	1	0	1,0	1,4
Pb I /1/0-5	A o. K	677	750	786	464	630	614	607	671	649,9	98,4
	K	124	113	138	92	112	109	121	131	117,5	14,3
	C	1	2	0	0	1	1	1	0	0,8	0,7
Pb I /2/0-1	A o. K	723	753	766	615	585	750	736	787	714,4	73,5
	K	47	124	113	94	66	92	98	94	91,0	24,5
	C	0	2	4	1	0	0	1	3	1,4	1,5
Pb I /2/0-5	A o. K.	401	447	522	468	477	490	516	463	473,0	38,8
	K	46	51	44	44	51	59	40	38	46,6	6,8
	C	0	1	3	3	2	3	4	0	2,0	1,5
Pb II /1/0-1	A o. K	988	762	787	825	977	916	882	993	891,3	92,4
	K	180	156	158	146	194	161	166	180	167,6	15,8
	C	4	1	0	3	2	1	3	0	1,8	1,5
Pb II /1/0-5	A o. K	772	851	800	715	949	744	939	883	831,6	88,0
	K	128	113	123	139	151	131	111	120	127,0	13,4
	C	3	0	1	2	2	1	0	0	1,1	1,1
Pb II /2/0-1	A o. K	844	862	893	929	936	921	1028	1148	945,1	99,1
	K	62	73	96	105	87	91	108	82	88,0	15,6
	C	3	5	4	4	2	5	1	1	3,1	1,6
Pb II /2/0-5	A o. K.	551	658	596	584	745	784	694	690	662,8	81,4
	K	68	59	62	65	79	68	60	68	66,1	6,4
	C	5	2	1	0	2	4	2	0	2,0	1,8

Tab. A5: Algenabundanzen, Schwermetallversuch 1995, Mittelwerte (MW) und Umrechnung von cfu/50 µl bzw. cfu/100 µl auf cfu/g TS Boden. Gegenüber Tab. A4 sind in dieser Tabelle Algen und Kieselalgen zusammengefaßt und werden in Abb. 3 als Gesamtalgenzahl bezeichnet.

Bodenprobe/ Tiefe	Algen- gruppe	MW Kieselalgen	MW Cyano- bakterien	MW Algen mit Kieselalgen	MW Kieselalgen	MW Cyano- bakterien	MW Algen mit Kieselalgen
		MW von 8 Petrischalen			umgerechneter Wert auf cfu/g TS Boden		
K 1/1/0-1	A K C	103,8	3,9	1 351,3	112 173	4 190	1 461 022
K 1/1/0-5	A K C	94,6	3,3	1 011,0	51 749	1 777	739 014
K 1/2/0-1	A K C	110,3	2,9	1 401,3	121 447	3 165	1 542 721
K 1/2/0-5	A K C	68,1	2,3	881,6	38 044	1 256	782 510
K r /1/0-1	A K C	204,6	2,8	1 359,9	224 934	3 023	1 494 843
K r /1/0-5	A K C	154,9	1,6	1 015,9	85 596	898	751 571
K r /2/0-1	A K C	136,4	2,6	1 136,3	150 454	2 895	1 253 046
K r /2/0-5	A K C	53,0	0,9	835,9	29 663	490	635 981
Cd I /1/0-1	A K C	132,1	3,1	1 691,6	145 373	3 438	1 861 241
Cd I /1/0-5	A K C	58,3	2,4	884,0	32 606	1 329	946 891
Cd I /2/0-1	A K C	109,0	2,4	1 701,9	121 105	2 639	1 890 877
Cd I /2/0-5	A K C	48,4	2,8	827,1	26 973	1 533	948 919

Fortsetzung Tab. A5:

Bodenprobe/ Tiefe	Algen- gruppe	MW Kieselalgen	MW Cyano- bakterien	MW Algen mit Kieselalgen	MW Kieselalgen	MW Cyano- bakterien	MW Algen mit Kieselalgen
		MW von 8 Petrischalen			umgerechneter Wert auf cfu/g TS Boden		
Cd II /1/0-1	A K C	173,8	1,4	1 614,0	191 188	1 513	1 775 984
Cd II /1/0-5	A K C	117,9	0,9	1 360,0	65 945	490	902 947
Cd II /2/0-1	A K C	93,0	0,1	1 797,1	102 547	138	1 981 602
Cd II /2/0-5	A K C	91,9	0,6	1 596,8	51 185	348	1 001 146
Pb I /1/0-1	A K C	174,0	1,0	1 016,5	192 580	1 107	1 125 043
Pb I /1/0-5	A K C	117,5	0,8	767,4	65 997	421	570 941
Pb I /2/0-1	A K C	91,0	1,4	805,4	99 618	1 505	881 647
Pb I /2/0-5	A K C	40,3	2,0	453,6	22 902	1 138	458 257
Pb II /1/0-1	A K C	167,6	1,8	1 058,9	184 889	1 930	1 167 928
Pb II /1/0-5	A K C	127,0	1,1	958,6	72 031	638	600 564
Pb II /2/0-1	A K C	88,0	3,1	1 033,1	97 587	3 465	1 145 680
Pb II /2/0-5	A K C	66,1	2,0	728,9	37 320	1 129	583 083

Tab. A6: Schwermetallversuch 1996, gezählte Kolonien pro Petrischale: Pro Petrischale wurden 100 µl einer Bodenlösung (2,5 g naturfeuchter Boden auf 250 ml BBM) aufgebracht. Bodentiefe: 0 cm bis 5 cm, Mittelwerte (MW), Algen (A), Kieselalgen (K) und Cyanobakterien (C).

Boden- proben	Algen- gruppe	Petrischalen				MW Kieselalgen	MW Cyano- bakterien	MW Algen ohne Kieselalgen und Cyanobakterien	Standard- abweichung
		1	2	3	4	MW aus vier Petrischalen			
K I /1	A K C	283 48 1	283 43 0	292 39 0	297 39 2	42	1	289	7 4 1
K I /2	A K C	343 92 1	338 102 2	350 114 1	338 113 4	105	2	342	6 10 1
K I /3	A K C	433 58 3	358 51 0	383 55 1	351 48 1	53	1	381	37 4 1
K I /4	A K C	406 38 4	379 47 5	367 39 8	331 41 6	41	6	371	31 4 2
Cd I /1	A K C	445 53 3	426 36 0	437 42 0	423 37 0	42	1	433	10 8 2
Cd I /2	A K C	381 60 3	363 73 1	457 58 1	441 63 1	64	2	411	46 7 1
Cd I /3	A K C	389 63 0	392 38 2	393 48 0	387 53 3	51	1	390	3 10 2
Cd I /4	A K C	467 61 6	422 42 7	452 45 7	388 52 0	50	5	432	35 8 3
Cd II /1	A K C	393 47 1	339 50 0	329 56 0	382 65 0	55	0	361	31 8 1
Cd II /2	A K C	447 71 7	458 82 13	482 97 5	416 102 1	88	7	451	27 14 5
Cd II /3	A K C	451 43 4	474 54 2	439 66 0	426 50 0	53	2	448	20 10 2
Cd II /4	A K C	622 64 1	674 46 1	625 62 7	696 53 1	56	3	654	37 8 3
Pb I /1	A K C	357 82 0	328 69 1	282 71 4	262 51 3	68	2	307	43 13 2
Pb I /2	A K C	236 62 3	215 58 1	234 43 1	217 55 2	55	2	226	11 7 1
Pb I /3	A K C	281 84 2	333 100 2	361 99 2	273 96 1	95	2	312	42 7 1
Pb I /4	A K C	267 76 0	248 85 0	252 73 2	255 75 0	77	1	256	8 5 1
Pb II /1	A K C	144 45 0	174 53 0	158 51 0	179 59 1	52	0	164	16 6 1
Pb II /2	A K C	197 57 0	169 61 0	173 55 0	190 55 0	57	0	182	13 3 0
Pb II /3	A K C	224 82 1	190 107 2	216 116 0	214 103 1	102	1	211	15 14 1
Pb II /4	A K C	205 51 0	183 47 0	206 77 0	241 61 1	59	0	209	24 13 1

Tab. A7: Algenabundanzen, Schwermetallversuch 1996, Umrechnung der ermittelten Koloniezähl-
daten (Mittelwerte) von cfu/ 100 µl auf cfu/g TS Boden für die Bodentiefe 0 cm bis 5 cm,
Gesamtalgenzahl (alle eukaryontischen Algen, also auch die Kieselalgen).

	Kieselalgen	Cyanobakterien	Gesamtalgen (A + K)
Bodenprobe	umgerechneter Wert auf cfu/g TS Boden		
K I /1	46 916	833	367 554
K I /2	117 869	2 240	501 153
K I /3	59 302	1 399	485 882
K I /4	46 186	6 438	461 304
Cd I /1	46 210	825	522 341
Cd I /2	70 721	1 671	527 903
Cd I /3	56 616	1 401	494 130
Cd I /4	55 601	5 560	536 273
Cd II /1	59 716	274	454 989
Cd II /2	98 595	7 283	603 616
Cd II /3	58 926	1 660	554 130
Cd II /4	62 325	2 770	787 234
Pb I /1	75 707	2 219	416 529
Pb I /2	60 967	1 958	313 226
Pb I /3	105 662	1 952	453 592
Pb I /4	86 273	558	371 618
Pb II /1	58 413	281	242 356
Pb II /2	58 756	0	246 621
Pb II /3	115 656	1 134	354 904
Pb II /4	66 742	283	302 883

Isolierungsversuch Darßer Ort, Algenabundanz

Tab. A8: Versuch Darßer Ort 1996, gezählte Kolonien pro Petrischale. Pro Petrischale wurden 100 µl (bei den mit * markierten Proben wurden 50 µl aufgebracht und mit 2 multipliziert) einer Bodenlösung, (30,0 g bei D 5/1-8 und 10,0 g bei D 6/1-8 naturfeuchter Boden auf 250 ml BBM) aufgebracht, Mittelwerte (MW), Algen (A), Kieselalgen (K) und Cyanobakterien (C).

Bodenproben	Algengruppe	Petrischalen				MW Kieselalgen	MW Cyanobakterien	MW Algen ohne Kieselalgen u. Cyanobakterien	Standardabweichung
		1	2	3	4	MW aus vier Petrischalen			
D 5/1	A	372	302	335	334			336	29
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 5/2*	A	3 676	3 348	3 150	3 268			3 361	226
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 5/3	A	492	574	536	555			539	35
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 5/4*	A	1 568	1 580	1 592	1 816			1 639	118
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 5/5*	A	2 096	2 192	1 984	2 162			2 109	92
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 5/6*	A	3 748	4 506	3 924	3 778			3 989	353
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 5/7*	A	4 296	3 742	4 088	3 718			3 961	280
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	2	0	0		1		1
D 5/8*	A	3 580	3 480	3 466	3 322			3 462	106
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0
D 6/1	A	2 106	1 856	1 851	1 835			1 912	130
	K	0	1	0	2	1			1
	C	42	34	42	47		41		5
D 6/2*	A	2 886	3 076	3 074	3 174			3 053	120
	K	0	0	0	0	0			0
	C	30	26	42	16		29		11
D 6/3*	A	3 570	3 396	3 324	3 490			3 445	108
	K	0	0	2	2	1			1
	C	26	26	22	34		27		5
D 6/4	A	2 364	2 333	2 125	2 293			2 279	107
	K	0	0	0	0	0			0
	C	9	3	4	4		5		3
D 6/5	A	470	598	479	584			533	68
	K	0	0	0	0	0			0
	C	1	0	0	0		0		1
D 6/6	A	1 128	1 031	1 146	1 095			1 100	51
	K	0	0	0	0	0			0
	C	2	0	3	0		1		2
D 6/7	A	707	836	698	885			782	94
	K	0	0	0	0	0			0
	C	2	3	1	0		2		1
D 6/8	A	3 176	2 833	3 131	3 064			3 051	152
	K	0	0	0	0	0			0
	C	0	0	0	0		0		0

Tab. A9: Algenabundanzen, Darßer Ort 1996, Umrechnung der ermittelten Algenkolonienzahlen (Mittelwerte) von cfu/100 µl auf cfu/g TS Boden für die Bodentiefe 0 cm bis 5 cm; Gesamtalgenzahl (A + K = alle eukaryontischen Algen, also auch die Kieselalgen).

	Kieselalgen	Cyanobakterien	Gesamtalgen
Bodenprobe	umgerechneter Wert auf cfu/g TS Boden		
D 5/1	0	0	28 869
D 5/2	0	0	285 837
D 5/3	0	0	46 272
D 5/4	0	0	140 365
D 5/5	0	0	180 581
D 5/6	0	0	341 219
D 5/7	0	515	339 973
D 5/8	0	0	296 852
D 6/1	863	44 529	515 591
D 6/2	0	30 530	817 471
D 6/3	1 059	28 596	912 413
D 6/4	0	5 223	595 136
D 6/5	0	306	135 713
D 6/6	0	1 318	278 805
D 6/7	0	1 541	200 750
D 6/8	0	0	840 946

Der Gel- und Boden-Biotest

Teststoff Cadmiumchlorid

Cadmium gehört zu den Elementen der 2. Nebengruppe des Periodensystems und ist in seinen Eigenschaften mit Zink vergleichbar.

Chemische und physikalische Eigenschaften für Cadmium (Sorbe 1983, Hollemann et al. 1985):

Physikalische Beschaffenheit: weiches, weiß bläuliches Metall

Schmelzpunkt:	320,9 °C
Siedepunkt:	765 °C
Dampfdruck:	$1,3 \cdot 10^4$ mbar bei 180 °C
Dichte:	8,642 g/cm ³ bei 20 °C

Chemische und physikalische Eigenschaften für Cadmiumchlorid (Sorbe 1983):

Physikalische Beschaffenheit: kristallin

Schmelzpunkt:	568 °C
Siedepunkt:	967 °C
Dampfdruck:	$1,3 \cdot 10^6$ mbar bei 266 °C
Dichte:	4,047 g/cm ³ bei 25 °C

Es kommt in der Natur als Cadmiumblende CdS und als Cadmiumcarbonat CdCO₃ vor, und zwar fast immer als Begleiter der Zinkblende ZNS und des Galmei ZnCO₃. Aus diesem Grund wird es als Nebenprodukt bei der Zinkgewinnung angereichert (Hollemann et al. 1985). Grundsätzlich sind Cadmiumsalze giftiger als Zinksalze, und sie neigen zu einer stärkeren Komplexbildung. Koch (1991) bezeichnet Cadmium als eines der toxischsten Metalle, bei dem inzwischen akute und chronische Intoxikationen bei beruflichen Expositionen bekannt sind. Eine entsprechende Cadmiumintoxikation wurde erstmals 1974 in Japan festgestellt und ist unter dem Namen „itali-itali-Krankheit“ (Symptome: Knochendeformationen und Skelettschrumpfung) in der Literatur beschrieben worden. Akute Cadmiumvergiftungen zeigen sich bei einer pulmonalen Resorption innerhalb einiger Stunden durch Symptome wie Kopfschmerzen, Schwindel, Übelkeit, Durstgefühl, Trockenheit im Hals (Wischnik 1981). Man geht inzwischen davon aus, daß Cadmium ein krebserregendes Potential beim Menschen hat (Sorbe 1983). Bei Rauchern wird als Gesamtkörperbelastung ein Cadmiumgehalt von 32 mg/kg Körpergewicht und bei Nichtrauchern 19 mg/kg Körpergewicht gemessen (Koch 1991).

Teststoff Isoproturon

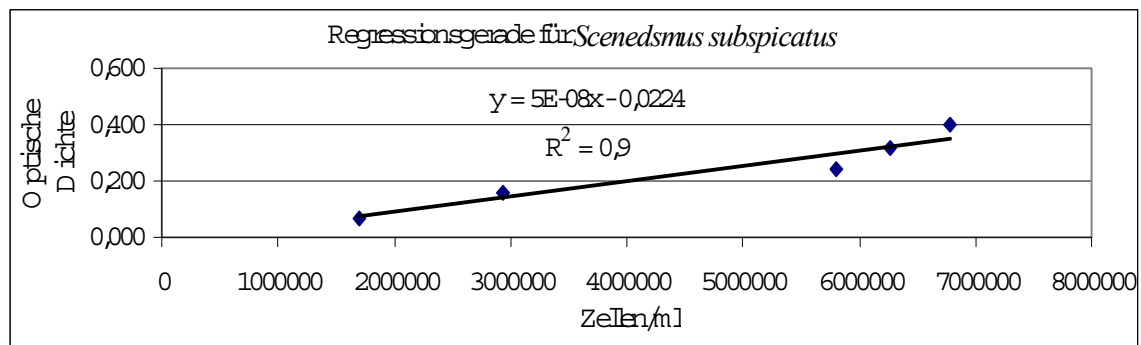
Handelsname:	z. B. Arelon (Isoproturongehalt: 500 g/l), Suspensionskonzentration
Wirkstoff:	Isoproturon
Chemische Bezeichnung:	3-(4-Isopropylphenyl)-1,1-Dimethylharnstoff
Wirkungstyp:	Selektives Vor- und Nachauflaufherbizid, Hemmung der Photosynthese, insbesondere des photosynthetischen Elektronentransports, Aufnahme durch Wurzel und Blatt
Bevorzugte Anwendung:	Gegen Ungräser in Winterweizen sowie gegen Kamille und Vogelmiere
Aufwandmengen:	1,0 kg bis 2,0 kg
Chemische und physikalische Eigenschaften	
Physikalische Beschaffenheit:	farblos, kristallin
Schmelzpunkt:	155 °C bis 156 °C
Siedepunkt:	nicht destillierbar
Dampfdruck:	3,3 µPa bei 20 °C
Dichte:	1,16 bei 20 °C
Verteilungskoeffizient (logPo/w):	ca. 2,5 bei pH 7 und 22 °C
Stabilität:	Gegen Licht und Säuren weitgehend stabil
Korrosives Verhalten:	nicht korrosiv
Löslichkeit in Wasser:	65 mg/l bei 20 °C
Abbau im Boden:	Die DT-50-Werte in zwei Versuchsjahren lagen zwischen 12 und 33 Tagen und für den DT-90 bei 34 bis 68 Tagen; der vollständige Abbau war nach 120 Tagen gegeben (Perkow & Ploss 1992, Domsch 1992).

Gel-Biotest

Eichkurven für die verschiedenen Algen des Gel-Biotests, MW 4 Zähl. (Mittelwert der vier Zählungen mittels Neubauer-Zellzählkammer), ST (Standardabweichung), VF (Verdünnungsfaktor), KF (Kammerfaktor der Neubauer-Zellzählkammer), OD (Optische Dichte)

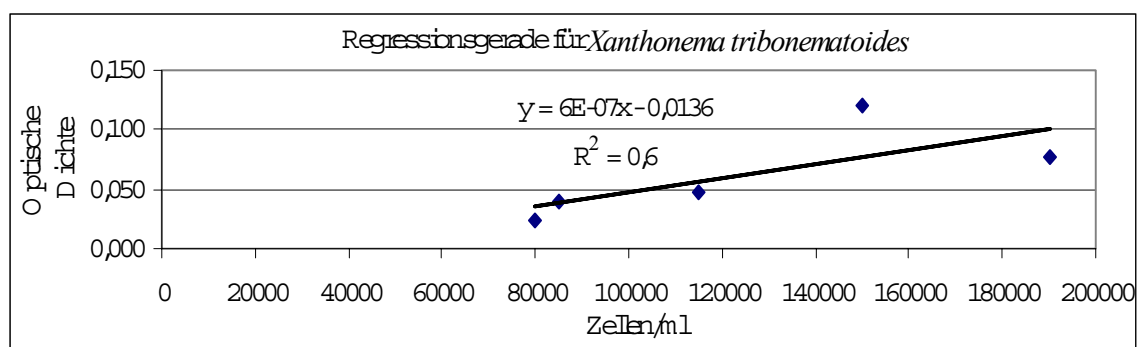
Tab. A10: *Scenedesmus subspicatus*

Zeit	MW 4 Zähl.	ST	VF	KF	Zellen/ml	OD
0	170,8	22,3	1	10 000	1 707 500	0,065
24	293,3	32,1	1	10 000	2 932 500	0,162
48	290,5	10,8	2	10 000	5 810 000	0,244
72	313,5	30,7	2	10 000	6 270 000	0,313
96	67,8	5,2	10	10 000	6 775 000	0,396



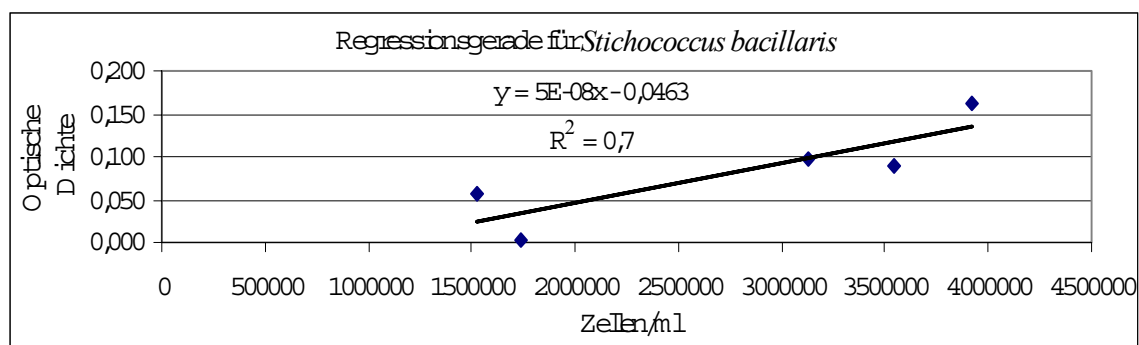
Tab. A11: *Xanthonema tribonematoides*

Zeit	MW 4 Zähl.	ST	VF	KF	Zellen/ml	OD
0	8,0	1,8	1	10 000	80 000	0,023
24	8,5	1,3	1	10 000	85 000	0,040
48	11,5	4,8	1	10 000	115 000	0,048
72	15,0	2,4	1	10 000	150 000	0,120
96	19,0	8,4	1	10 000	190 000	0,077



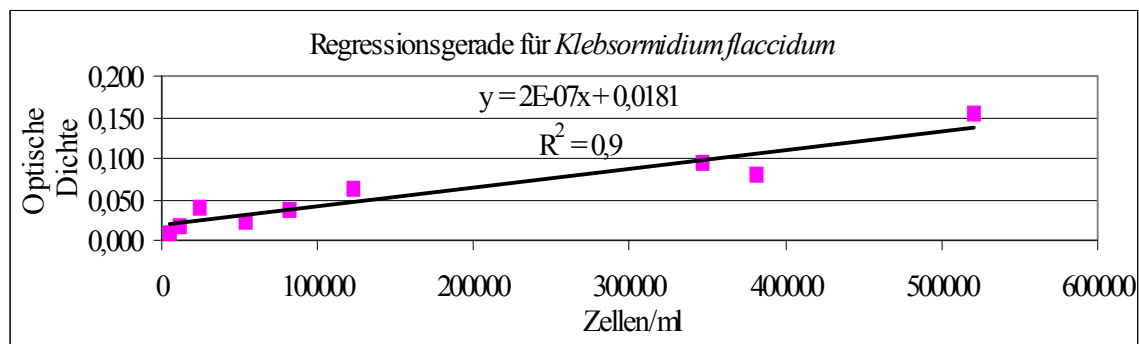
Tab. A12: *Stichococcus bacillaris*

Zeit	MW 4 Zähl.	STABW	VF	KF	Zellen/ml	OD
0	174,0	33,8	1	10 000	1 740 000	0,003
24	152,5	42,5	1	10 000	1 525 000	0,057
48	177,3	13,0	2	10 000	3 545 000	0,089
72	156,3	34,4	2	10 000	3 125 000	0,096
96	196,0	17,6	2	10 000	3 920 000	0,161

Tab. A13: *Klebsormidium flaccidum*

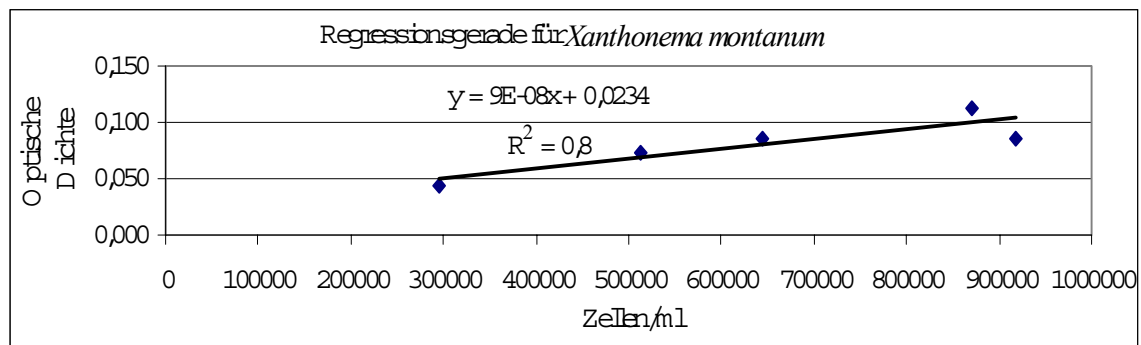
Messung	Zellen/ml	OD
1	81 820	0,037
2	11 200	0,017
3	122 940	0,063
4	54 000	0,022
5	347 280	0,095
6	4 920	0,009
7	381 600	0,079
8	24 160	0,040
9	521 200	0,153

Für *Klebsormidium flaccidum* konnte nicht die Zähltechnik mit der Neubauer-Zellzählkammer durchgeführt werden, da diese Algen nicht in einzelne Zellen zerfällt, sondern beständige Fäden bildet. Deshalb wurden 10mal 2,5 µl bis 5 µl Tropfen ausgezählt. Die Standardabweichung bewegte sich um 50 % des Zählwertes. Aus diesem Grund wurde die Anzahl der Meßwerte zur Erstellung der Regressionsgeraden auf neun erhöht.

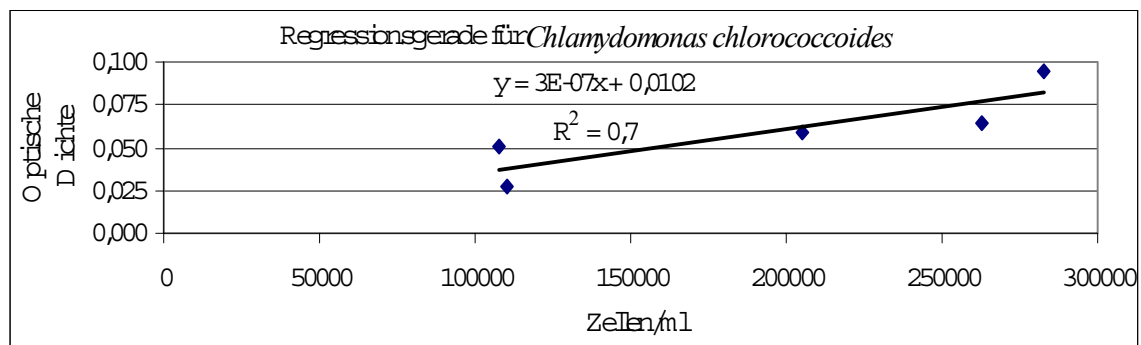


Tab. A14: *Xanthonema montanum*

Zeit	MW 4 Zähl.	STABW	VF	KF	Zellen/ml	OD
0	29,5	12,9	1	10 000	295 000	0,043
24	51,3	21,7	1	10 000	512 500	0,072
48	91,8	38,0	1	10 000	917 500	0,086
72	64,5	27,9	1	10 000	645 000	0,085
96	87,0	35,4	1	10 000	870 000	0,113

Tab. A15: *Chlamydomonas chlorococcoides*

M.	MW 4 Zähl.	STABW	VF	KF	Zellen/ml	OD
1.	11,0	1,4	1	10 000	110 000	0,027
2.	10,8	0,5	1	10 000	107 500	0,051
3.	26,3	3,6	1	10 000	262 500	0,065
4.	20,5	1,3	1	10 000	205 000	0,059
5.	28,3	5,1	1	10 000	282 500	0,094



Tab. A16: Daten der Wachstumskurven der sechs Biotestalgen (Kontrollen) im Gel-Biotest, Mittelwert (MW) von vier Wiederholungen eines Versuches mit Standardabweichung (ST)

Arten/Zeit	0 h		24 h		48 h		72 h		96 h	
	MW	ST	MW	ST	MW	ST	MW	ST	MW	ST
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	0,099	0,002	0,155	0,002	0,245	0,005	0,286	0,006	0,314	0,008
<i>Xanthonema tribonematoides</i>	0,055	0,003	0,064	0,002	0,071	0,002	0,082	0,004	0,091	0,007
<i>Stichococcus bacillaris</i>	0,049	0,001	0,067	0,002	0,089	0,002	0,112	0,006	0,131	0,007
<i>Klebsormidium flaccidum</i>	0,021	0,002	0,028	0,005	0,032	0,003	0,041	0,007	0,043	0,003
<i>Xanthonema montanum</i>	0,084	0,001	0,098	0,001	0,114	0,002	0,124	0,002	0,135	0,001
<i>Chlamydomonas chlorococcoides</i>	0,058	0,002	0,069	0,003	0,074	0,003	0,084	0,004	0,089	0,004

Messungen der Optischen Dichte im Gel-Biotest. Es sind jeweils die fünf Messungen (800 nm Filter) der Algendichte als OD für die Teststoffe Cadmiumchlorid und Isoproturon dargestellt; *S. s.* (*Scenedesmus subspicatus*), *X. t.* (*Xanthonema tribonematoides*), *S. b.* (*Stichococcus bacillaris*), *K. f.* (*Klebsormidium flaccidum*), *X. m.* (*Xanthonema montanum*), *C. n.* (*Chlamydomonas noctigama*), Alg. (Algen), K. (Konzentrationen), ST (Standardabweichung).

Tab. A17: Konzentrationen für Cadmium und Isoproturon

Konzentrationen	Cadmium in mg/l OECD-Medium	Isoproturon in mg/l OECD-Medium
Kontrolle	0,0	0,0
1.	0,01563	0,0195
2.	0,03125	0,0390
3.	0,0625	0,0781
4.	0,125	0,1562
5.	0,25	0,3125
6.	0,5	0,625
7.	1,0	1,25
8.	2,0	2,5
9.	4,0	5,0

Anmerkung:

Im ersten Versuch (Cadmium) bei der ersten Versuchswiederholung wurde noch nicht mit den zwei niedrigsten Konzentrationen gearbeitet.

Erster Versuch mit vier einzelnen, zeitlich versetzten Versuchswiederholungen, Teststoff Cadmiumchlorid als Cadmium in mg/l OECD-Medium:

Erste Versuchswiederholung, je Konzentration Mittelwert aus vier Parallelen

Tab. A17.1: Messung nach 0 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,048	0,002	/	/	/	/	0,049	0,002	0,044	0,002	0,042	0,001	0,050	0,002	0,046	0,002	0,047	0,001	0,050	0,001
<i>X. t.</i>	0,021	0,001	/	/	/	/	0,023	0,002	0,024	0,003	0,020	0,001	0,022	0,004	0,023	0,001	0,024	0,001	0,023	0,003
<i>S. b.</i>	0,031	0,002	/	/	/	/	0,032	0,000	0,037	0,002	0,033	0,001	0,032	0,003	0,032	0,001	0,034	0,001	0,035	0,003
<i>K. f.</i>	0,050	0,005	/	/	/	/	0,040	0,004	0,048	0,002	0,045	0,002	0,042	0,006	0,042	0,003	0,047	0,004	0,044	0,003
<i>X. m.</i>	0,038	0,002	/	/	/	/	0,039	0,004	0,043	0,003	0,039	0,002	0,039	0,002	0,040	0,002	0,038	0,001	0,040	0,001
<i>C. n.</i>	0,020	0,001	/	/	/	/	0,022	0,001	0,025	0,001	0,024	0,002	0,023	0,002	0,022	0,001	0,023	0,001	0,020	0,002

Tab. A17.2: Messung nach 24 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,102	0,003	/	/	/	/	0,076	0,003	0,058	0,003	0,055	0,002	0,055	0,002	0,049	0,001	0,052	0,001	0,052	0,002
<i>X. t.</i>	0,031	0,002	/	/	/	/	0,033	0,004	0,032	0,002	0,029	0,001	0,027	0,005	0,027	0,001	0,028	0,003	0,026	0,002
<i>S. b.</i>	0,058	0,002	/	/	/	/	0,058	0,001	0,059	0,003	0,057	0,001	0,052	0,003	0,049	0,001	0,048	0,002	0,041	0,003
<i>K. f.</i>	0,074	0,006	/	/	/	/	0,054	0,005	0,060	0,003	0,057	0,003	0,052	0,007	0,050	0,003	0,057	0,004	0,050	0,004
<i>X. m.</i>	0,053	0,004	/	/	/	/	0,054	0,006	0,050	0,003	0,046	0,002	0,050	0,001	0,047	0,002	0,045	0,001	0,046	0,001
<i>C. n.</i>	0,028	0,000	/	/	/	/	0,030	0,001	0,028	0,001	0,028	0,001	0,028	0,003	0,029	0,002	0,028	0,002	0,025	0,001

Tab. A17.3: Messung nach 48 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,195	0,004	/	/	/	/	0,145	0,010	0,084	0,005	0,054	0,003	0,054	0,003	0,051	0,002	0,051	0,002	0,051	0,001
<i>X. t.</i>	0,041	0,002	/	/	/	/	0,042	0,005	0,048	0,003	0,041	0,004	0,036	0,008	0,032	0,001	0,028	0,001	0,027	0,002
<i>S. b.</i>	0,092	0,003	/	/	/	/	0,086	0,001	0,094	0,004	0,079	0,002	0,072	0,003	0,067	0,003	0,049	0,002	0,037	0,003
<i>K. f.</i>	0,089	0,007	/	/	/	/	0,059	0,005	0,065	0,004	0,062	0,003	0,053	0,007	0,052	0,004	0,053	0,004	0,048	0,004
<i>X. m.</i>	0,067	0,004	/	/	/	/	0,066	0,007	0,059	0,004	0,052	0,002	0,056	0,002	0,050	0,001	0,043	0,001	0,045	0,001
<i>C. n.</i>	0,036	0,001	/	/	/	/	0,039	0,001	0,039	0,004	0,035	0,002	0,035	0,002	0,032	0,001	0,028	0,002	0,024	0,001

Tab. A17.4: Messung nach 72 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,279	0,007	/	/	/	/	0,221	0,012	0,169	0,010	0,058	0,002	0,052	0,003	0,048	0,002	0,049	0,001	0,047	0,001
<i>X. t.</i>	0,052	0,002	/	/	/	/	0,051	0,006	0,059	0,004	0,050	0,006	0,042	0,009	0,035	0,002	0,027	0,001	0,027	0,003
<i>S. b.</i>	0,114	0,004	/	/	/	/	0,106	0,003	0,124	0,005	0,098	0,003	0,087	0,004	0,075	0,004	0,050	0,002	0,034	0,003
<i>K. f.</i>	0,107	0,009	/	/	/	/	0,059	0,005	0,064	0,004	0,059	0,003	0,050	0,006	0,047	0,005	0,050	0,004	0,043	0,004
<i>X. m.</i>	0,073	0,004	/	/	/	/	0,071	0,008	0,065	0,004	0,056	0,002	0,060	0,002	0,049	0,002	0,043	0,002	0,043	0,001
<i>C. n.</i>	0,048	0,004	/	/	/	/	0,069	0,011	0,049	0,003	0,037	0,002	0,041	0,004	0,033	0,002	0,026	0,002	0,022	0,001

Tab. A17.5: Messung nach 96 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,309	0,008	/	/	/	/	0,249	0,012	0,210	0,013	0,063	0,003	0,054	0,002	0,049	0,002	0,047	0,001	0,047	0,001
<i>X. t.</i>	0,059	0,001	/	/	/	/	0,063	0,006	0,069	0,003	0,057	0,009	0,049	0,010	0,041	0,004	0,027	0,001	0,027	0,003
<i>S. b.</i>	0,135	0,005	/	/	/	/	0,126	0,004	0,146	0,007	0,113	0,005	0,107	0,004	0,088	0,005	0,050	0,002	0,033	0,003
<i>K. f.</i>	0,128	0,010	/	/	/	/	0,059	0,006	0,060	0,004	0,058	0,003	0,048	0,006	0,047	0,002	0,047	0,003	0,041	0,003
<i>X. m.</i>	0,080	0,005	/	/	/	/	0,079	0,009	0,071	0,005	0,060	0,002	0,064	0,001	0,051	0,002	0,040	0,001	0,042	0,001
<i>C. n.</i>	0,062	0,002	/	/	/	/	0,094	0,006	0,061	0,002	0,044	0,002	0,050	0,004	0,039	0,002	0,026	0,003	0,022	0,001

Zweite Versuchswiederholung, je Konzentration Mittelwert aus vier Parallelen

Tab. A17.6: Messung nach 0 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,077	0,001	0,076	0,001	0,070	0,003	0,064	0,004	0,078	0,002	0,078	0,004	0,074	0,002	0,071	0,002	0,073	0,002	0,077	0,001
<i>X. t.</i>	0,036	0,003	0,029	0,002	0,030	0,002	0,027	0,002	0,029	0,003	0,035	0,003	0,031	0,000	0,030	0,002	0,028	0,001	0,027	0,002
<i>S. b.</i>	0,042	0,002	0,036	0,001	0,035	0,002	0,034	0,001	0,040	0,001	0,036	0,005	0,036	0,001	0,030	0,001	0,039	0,002	0,038	0,003
<i>K. f.</i>	0,012	0,005	0,009	0,001	0,016	0,004	0,009	0,003	0,009	0,001	0,008	0,002	0,007	0,005	0,003	0,001	0,003	0,001	0,007	0,005
<i>X. m.</i>	0,050	0,003	0,049	0,002	0,054	0,002	0,050	0,003	0,056	0,002	0,055	0,004	0,048	0,001	0,048	0,003	0,053	0,003	0,054	0,002
<i>C. n.</i>	0,030	0,002	0,031	0,001	0,037	0,003	0,035	0,003	0,037	0,001	0,036	0,001	0,030	0,001	0,032	0,002	0,033	0,001	0,030	0,003

Tab. A17.7: Messung nach 24 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,173	0,015	0,106	0,001	0,188	0,008	0,169	0,008	0,159	0,009	0,149	0,006	0,116	0,003	0,103	0,001	0,099	0,003	0,092	0,003
<i>X. t.</i>	0,044	0,004	0,046	0,003	0,054	0,004	0,049	0,004	0,054	0,006	0,052	0,005	0,045	0,003	0,045	0,003	0,042	0,002	0,040	0,003
<i>S. b.</i>	0,066	0,003	0,063	0,002	0,064	0,004	0,063	0,002	0,061	0,002	0,054	0,011	0,062	0,001	0,054	0,001	0,061	0,003	0,052	0,004
<i>K. f.</i>	0,016	0,003	0,024	0,002	0,025	0,009	0,018	0,005	0,015	0,002	0,009	0,003	0,015	0,005	0,008	0,002	0,005	0,002	0,013	0,008
<i>X. m.</i>	0,074	0,003	0,075	0,003	0,077	0,003	0,076	0,004	0,073	0,003	0,070	0,004	0,069	0,001	0,065	0,002	0,064	0,004	0,071	0,004
<i>C. n.</i>	0,054	0,009	0,057	0,003	0,051	0,006	0,051	0,004	0,050	0,004	0,054	0,002	0,049	0,005	0,049	0,006	0,049	0,003	0,051	0,003

Tab. A17.8: Messung nach 48 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,265	0,024	0,149	0,004	0,289	0,011	0,261	0,011	0,238	0,011	0,188	0,009	0,120	0,002	0,102	0,001	0,100	0,004	0,092	0,003
<i>X. t.</i>	0,055	0,006	0,061	0,002	0,069	0,003	0,060	0,005	0,067	0,005	0,059	0,006	0,052	0,003	0,050	0,003	0,043	0,002	0,038	0,001
<i>S. b.</i>	0,090	0,005	0,089	0,004	0,093	0,006	0,086	0,003	0,085	0,003	0,072	0,011	0,083	0,001	0,071	0,003	0,068	0,003	0,052	0,004
<i>K. f.</i>	0,025	0,004	0,029	0,003	0,028	0,009	0,018	0,006	0,016	0,002	0,009	0,002	0,012	0,005	0,009	0,002	0,006	0,003	0,013	0,008
<i>X. m.</i>	0,089	0,004	0,098	0,004	0,094	0,005	0,090	0,005	0,088	0,004	0,087	0,005	0,075	0,001	0,071	0,002	0,068	0,004	0,072	0,004
<i>C. n.</i>	0,062	0,010	0,069	0,004	0,059	0,005	0,057	0,005	0,055	0,004	0,061	0,004	0,053	0,005	0,052	0,006	0,054	0,003	0,053	0,002

Tab. A17.9: Messung nach 72 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,323	0,025	0,213	0,007	0,348	0,010	0,317	0,011	0,284	0,010	0,227	0,010	0,115	0,002	0,095	0,002	0,092	0,003	0,087	0,003
<i>X. t.</i>	0,063	0,007	0,072	0,002	0,082	0,005	0,070	0,006	0,077	0,006	0,066	0,007	0,059	0,003	0,051	0,004	0,044	0,002	0,036	0,002
<i>S. b.</i>	0,117	0,008	0,117	0,007	0,128	0,014	0,111	0,005	0,109	0,004	0,085	0,012	0,107	0,001	0,083	0,003	0,067	0,004	0,047	0,004
<i>K. f.</i>	0,029	0,005	0,034	0,003	0,025	0,008	0,016	0,006	0,012	0,001	0,007	0,002	0,012	0,005	0,008	0,002	0,004	0,003	0,010	0,007
<i>X. m.</i>	0,097	0,004	0,114	0,004	0,105	0,005	0,097	0,011	0,095	0,005	0,091	0,006	0,079	0,002	0,075	0,002	0,066	0,004	0,069	0,006
<i>C. n.</i>	0,073	0,011	0,081	0,006	0,067	0,005	0,062	0,005	0,060	0,006	0,062	0,003	0,055	0,005	0,052	0,005	0,053	0,003	0,053	0,002

Tab. A17.10: Messung nach 96 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,370	0,024	0,259	0,014	0,384	0,005	0,354	0,009	0,310	0,009	0,254	0,012	0,116	0,004	0,089	0,001	0,084	0,003	0,081	0,003
<i>X. t.</i>	0,077	0,015	0,084	0,001	0,096	0,008	0,080	0,005	0,087	0,006	0,074	0,009	0,063	0,004	0,053	0,005	0,046	0,002	0,035	0,001
<i>S. b.</i>	0,147	0,010	0,149	0,008	0,176	0,028	0,138	0,011	0,145	0,011	0,102	0,014	0,140	0,003	0,104	0,006	0,068	0,005	0,045	0,004
<i>K. f.</i>	0,035	0,006	0,035	0,004	0,023	0,007	0,015	0,005	0,011	0,001	0,007	0,002	0,011	0,004	0,007	0,001	0,006	0,005	0,011	0,007
<i>X. m.</i>	0,105	0,005	0,127	0,005	0,117	0,006	0,094	0,018	0,103	0,006	0,101	0,006	0,089	0,002	0,081	0,003	0,063	0,004	0,067	0,005
<i>C. n.</i>	0,083	0,011	0,103	0,009	0,077	0,006	0,070	0,007	0,064	0,008	0,066	0,003	0,070	0,020	0,054	0,005	0,052	0,003	0,053	0,002

Dritte Versuchswiederholung, je Konzentration Mittelwert aus vier Parallelen**Tab. A17.11: Messung nach 0 h, Teststoff Cadmiumchlorid**

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,087	0,001	0,089	0,003	0,080	0,003	0,082	0,002	0,082	0,004	0,083	0,004	0,081	0,003	0,082	0,006	0,081	0,003	0,079	0,003
<i>X. t.</i>	0,074	0,009	0,056	0,001	0,052	0,001	0,056	0,002	0,054	0,004	0,046	0,002	0,047	0,001	0,052	0,002	0,049	0,002	0,045	0,001
<i>S. b.</i>	0,064	0,005	0,058	0,001	0,049	0,002	0,059	0,005	0,052	0,004	0,054	0,001	0,047	0,003	0,043	0,001	0,041	0,006	0,034	0,003
<i>K. f.</i>	0,059	0,011	0,062	0,008	0,059	0,002	0,070	0,003	0,064	0,009	0,063	0,008	0,046	0,003	0,032	0,003	0,042	0,008	0,039	0,004
<i>X. m.</i>	0,097	0,013	0,090	0,002	0,083	0,001	0,086	0,006	0,083	0,005	0,080	0,003	0,079	0,006	0,077	0,002	0,079	0,003	0,083	0,006
<i>C. n.</i>	0,073	0,014	0,067	0,002	0,064	0,003	0,068	0,003	0,061	0,004	0,058	0,001	0,059	0,003	0,058	0,004	0,059	0,003	0,060	0,003

Tab. A17.12: Messung nach 24 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,173	0,015	0,106	0,001	0,188	0,008	0,169	0,008	0,159	0,009	0,149	0,006	0,116	0,003	0,103	0,001	0,099	0,003	0,092	0,003
<i>X. t.</i>	0,044	0,004	0,046	0,003	0,054	0,004	0,049	0,004	0,054	0,006	0,052	0,005	0,045	0,003	0,045	0,003	0,042	0,002	0,040	0,003
<i>S. b.</i>	0,066	0,003	0,063	0,002	0,064	0,004	0,063	0,002	0,061	0,002	0,054	0,011	0,062	0,001	0,054	0,001	0,061	0,003	0,052	0,004
<i>K. f.</i>	0,016	0,003	0,024	0,002	0,025	0,009	0,018	0,005	0,015	0,002	0,009	0,003	0,015	0,005	0,008	0,002	0,005	0,002	0,013	0,008
<i>X. m.</i>	0,074	0,003	0,075	0,003	0,077	0,003	0,076	0,004	0,073	0,003	0,070	0,004	0,069	0,001	0,065	0,002	0,064	0,004	0,071	0,004
<i>C. n.</i>	0,054	0,009	0,057	0,003	0,051	0,006	0,051	0,004	0,050	0,004	0,054	0,002	0,049	0,005	0,049	0,006	0,049	0,003	0,051	0,003

Tab. A17.13: Messung nach 48 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,264	0,014	0,311	0,016	0,325	0,008	0,236	0,005	0,264	0,015	0,216	0,004	0,136	0,003	0,125	0,009	0,111	0,008	0,101	0,005
<i>X. t.</i>	0,083	0,006	0,076	0,014	0,092	0,003	0,078	0,008	0,090	0,009	0,073	0,006	0,077	0,009	0,083	0,004	0,071	0,010	0,058	0,005
<i>S. b.</i>	0,122	0,006	0,121	0,012	0,112	0,006	0,109	0,006	0,108	0,005	0,107	0,002	0,101	0,007	0,093	0,003	0,084	0,009	0,061	0,008
<i>K. f.</i>	0,077	0,011	0,093	0,019	0,088	0,006	0,092	0,004	0,085	0,018	0,082	0,013	0,055	0,005	0,038	0,004	0,048	0,012	0,042	0,005
<i>X. m.</i>	0,119	0,012	0,130	0,019	0,146	0,004	0,114	0,008	0,129	0,013	0,117	0,006	0,112	0,011	0,116	0,002	0,119	0,012	0,117	0,009
<i>C. n.</i>	0,089	0,015	0,093	0,017	0,105	0,005	0,098	0,006	0,099	0,006	0,100	0,009	0,091	0,005	0,092	0,003	0,099	0,001	0,092	0,005

Tab. A17.14: Messung nach 72 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,322	0,014	0,347	0,021	0,384	0,009	0,287	0,006	0,316	0,016	0,221	0,016	0,137	0,003	0,119	0,008	0,101	0,007	0,092	0,004
<i>X. t.</i>	0,092	0,008	0,094	0,024	0,105	0,003	0,087	0,009	0,100	0,009	0,068	0,013	0,084	0,012	0,086	0,005	0,069	0,010	0,055	0,005
<i>S. b.</i>	0,170	0,003	0,157	0,014	0,162	0,008	0,165	0,009	0,152	0,005	0,131	0,011	0,135	0,008	0,120	0,002	0,087	0,011	0,059	0,007
<i>K. f.</i>	0,087	0,008	0,107	0,014	0,085	0,006	0,092	0,007	0,077	0,022	0,077	0,012	0,056	0,004	0,036	0,003	0,044	0,011	0,040	0,004
<i>X. m.</i>	0,130	0,013	0,144	0,021	0,157	0,004	0,122	0,007	0,139	0,014	0,123	0,004	0,120	0,011	0,123	0,002	0,122	0,012	0,116	0,008
<i>C. n.</i>	0,096	0,018	0,107	0,018	0,111	0,004	0,102	0,005	0,112	0,010	0,086	0,004	0,092	0,004	0,093	0,003	0,098	0,002	0,090	0,005

Tab. A17.15: Messung nach 96 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,323	0,055	0,333	0,021	0,406	0,008	0,322	0,007	0,346	0,016	0,238	0,019	0,132	0,003	0,110	0,007	0,096	0,006	0,091	0,004
<i>X. t.</i>	0,101	0,006	0,107	0,016	0,116	0,004	0,094	0,011	0,109	0,010	0,076	0,010	0,089	0,011	0,088	0,005	0,068	0,010	0,055	0,004
<i>S. b.</i>	0,201	0,005	0,185	0,017	0,193	0,010	0,199	0,008	0,178	0,007	0,150	0,010	0,150	0,008	0,138	0,004	0,084	0,013	0,055	0,007
<i>K. f.</i>	0,098	0,013	0,116	0,025	0,088	0,006	0,090	0,005	0,078	0,023	0,081	0,012	0,053	0,005	0,037	0,005	0,041	0,010	0,038	0,004
<i>X. m.</i>	0,137	0,014	0,145	0,021	0,167	0,003	0,130	0,007	0,148	0,015	0,139	0,007	0,125	0,012	0,122	0,002	0,118	0,013	0,114	0,009
<i>C. n.</i>	0,113	0,004	0,122	0,016	0,121	0,006	0,113	0,004	0,130	0,010	0,105	0,007	0,103	0,006	0,095	0,003	0,095	0,002	0,089	0,005

Vierte Versuchswiederholung, je Konzentration Mittelwert aus vier Parallelen

Tab. A17.16: Messung nach 0 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,100	0,006	0,088	0,003	0,083	0,003	0,090	0,002	0,089	0,004	0,096	0,006	0,090	0,006	0,088	0,003	0,089	0,004	0,088	0,003
<i>X. t.</i>	0,061	0,004	0,051	0,002	0,054	0,002	0,059	0,006	0,058	0,003	0,058	0,002	0,050	0,002	0,055	0,003	0,058	0,001	0,044	0,004
<i>S. b.</i>	0,076	0,007	0,065	0,004	0,063	0,003	0,071	0,007	0,070	0,006	0,067	0,007	0,057	0,002	0,059	0,002	0,070	0,003	0,062	0,003
<i>K. f.</i>	0,045	0,005	0,046	0,004	0,036	0,007	0,044	0,001	0,042	0,005	0,043	0,005	0,041	0,008	0,037	0,003	0,032	0,006	0,038	0,003
<i>X. m.</i>	0,101	0,002	0,075	0,003	0,076	0,003	0,087	0,007	0,082	0,003	0,082	0,008	0,069	0,005	0,074	0,002	0,071	0,002	0,069	0,001
<i>C. n.</i>	0,062	0,003	0,053	0,003	0,052	0,003	0,056	0,006	0,059	0,005	0,062	0,003	0,052	0,002	0,056	0,003	0,062	0,004	0,052	0,001

Tab. A17.17: Messung nach 24 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,195	0,012	0,189	0,006	0,184	0,009	0,166	0,006	0,170	0,005	0,147	0,005	0,116	0,010	0,112	0,005	0,103	0,006	0,099	0,005
<i>X. t.</i>	0,069	0,005	0,070	0,004	0,073	0,003	0,066	0,008	0,072	0,007	0,058	0,002	0,063	0,003	0,071	0,004	0,072	0,001	0,054	0,006
<i>S. b.</i>	0,080	0,010	0,079	0,003	0,085	0,004	0,088	0,007	0,087	0,004	0,083	0,006	0,081	0,003	0,087	0,005	0,092	0,005	0,077	0,003
<i>K. f.</i>	0,052	0,004	0,050	0,006	0,042	0,008	0,051	0,005	0,044	0,007	0,046	0,005	0,046	0,008	0,045	0,005	0,035	0,007	0,036	0,003
<i>X. m.</i>	0,114	0,002	0,092	0,004	0,104	0,007	0,096	0,003	0,094	0,008	0,096	0,006	0,086	0,006	0,095	0,004	0,083	0,002	0,081	0,003
<i>C. n.</i>	0,070	0,004	0,063	0,005	0,065	0,005	0,063	0,008	0,062	0,008	0,067	0,007	0,066	0,004	0,069	0,003	0,074	0,006	0,065	0,003

Tab. A17.18: Messung nach 48 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,259	0,013	0,288	0,004	0,261	0,013	0,223	0,005	0,238	0,007	0,189	0,009	0,115	0,010	0,111	0,006	0,106	0,007	0,100	0,005
<i>X. t.</i>	0,078	0,005	0,083	0,005	0,082	0,004	0,072	0,009	0,077	0,008	0,061	0,003	0,069	0,003	0,077	0,006	0,073	0,001	0,055	0,005
<i>S. b.</i>	0,105	0,010	0,106	0,004	0,110	0,006	0,110	0,006	0,108	0,005	0,100	0,005	0,100	0,002	0,104	0,004	0,110	0,006	0,084	0,002
<i>K. f.</i>	0,059	0,004	0,055	0,007	0,044	0,008	0,052	0,005	0,045	0,007	0,046	0,004	0,047	0,008	0,045	0,004	0,034	0,007	0,036	0,002
<i>X. m.</i>	0,127	0,003	0,109	0,007	0,118	0,006	0,106	0,003	0,106	0,007	0,103	0,006	0,092	0,006	0,097	0,004	0,088	0,004	0,085	0,003
<i>C. n.</i>	0,077	0,003	0,075	0,005	0,071	0,005	0,065	0,008	0,062	0,007	0,067	0,007	0,067	0,003	0,069	0,003	0,075	0,005	0,062	0,003

Tab. A17.19: Messung nach 72 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,308	0,011	0,329	0,004	0,310	0,016	0,266	0,004	0,283	0,007	0,219	0,013	0,114	0,009	0,109	0,005	0,099	0,006	0,097	0,006
<i>X. t.</i>	0,083	0,006	0,091	0,006	0,088	0,004	0,077	0,009	0,082	0,008	0,065	0,003	0,072	0,002	0,077	0,005	0,072	0,001	0,054	0,005
<i>S. b.</i>	0,123	0,011	0,132	0,006	0,145	0,006	0,138	0,006	0,137	0,005	0,120	0,004	0,126	0,003	0,126	0,005	0,116	0,004	0,082	0,003
<i>K. f.</i>	0,078	0,008	0,067	0,015	0,042	0,008	0,050	0,005	0,047	0,005	0,046	0,005	0,044	0,007	0,040	0,003	0,031	0,007	0,034	0,002
<i>X. m.</i>	0,133	0,002	0,116	0,006	0,129	0,006	0,114	0,004	0,112	0,008	0,109	0,006	0,098	0,007	0,098	0,005	0,086	0,003	0,085	0,005
<i>C. n.</i>	0,083	0,004	0,090	0,006	0,080	0,005	0,072	0,008	0,065	0,008	0,070	0,008	0,068	0,004	0,066	0,002	0,071	0,005	0,060	0,003

Tab. A17.20: Messung nach 96 h, Teststoff Cadmiumchlorid

Alg./K.	Cd 0	Cd0ST	Cd 1	Cd1ST	Cd 2	Cd2ST	Cd 3	Cd3ST	Cd 4	Cd4ST	Cd 5	Cd5ST	Cd 6	Cd6ST	Cd 7	Cd7ST	Cd 8	Cd8ST	Cd 9	Cd9ST
<i>S. s.</i>	0,350	0,015	0,343	0,008	0,335	0,018	0,302	0,006	0,312	0,006	0,234	0,015	0,112	0,010	0,103	0,004	0,093	0,006	0,091	0,005
<i>X. t.</i>	0,091	0,005	0,099	0,005	0,099	0,007	0,084	0,008	0,087	0,008	0,067	0,002	0,077	0,002	0,079	0,004	0,072	0,001	0,054	0,004
<i>S. b.</i>	0,139	0,013	0,145	0,016	0,168	0,006	0,158	0,005	0,154	0,003	0,134	0,005	0,146	0,003	0,145	0,007	0,116	0,005	0,080	0,003
<i>K. f.</i>	0,084	0,009	0,065	0,009	0,042	0,008	0,049	0,004	0,041	0,006	0,041	0,004	0,041	0,007	0,037	0,003	0,029	0,006	0,033	0,002
<i>X. m.</i>	0,143	0,003	0,102	0,013	0,137	0,006	0,120	0,003	0,120	0,008	0,114	0,006	0,102	0,007	0,098	0,005	0,085	0,003	0,083	0,004
<i>C. n.</i>	0,095	0,004	0,091	0,011	0,093	0,006	0,082	0,009	0,073	0,008	0,073	0,008	0,073	0,005	0,067	0,003	0,068	0,005	0,057	0,003

Versuch mit Arelon, Wirkstoff Isoproturon in mg/l OECD-Medium, je Konzentration Mittelwert aus vier Parallelen

Tab. A17.21: Messung nach 0 h, Teststoff Isoproturon (IP)

Alg./K.	IP 0	IP0ST	IP 1	IP1ST	IP 2	IP2ST	IP 3	IP3ST	IP 4	IP4ST	IP 5	IP5ST	IP 6	IP6ST	IP 7	IP7ST	IP 8	IP8ST	IP 9	IP9ST
<i>S. s.</i>	0,099	0,002	0,098	0,006	0,101	0,004	0,103	0,004	0,099	0,005	0,096	0,001	0,097	0,003	0,100	0,002	0,099	0,003	0,101	0,002
<i>X. t.</i>	0,055	0,003	0,056	0,003	0,056	0,002	0,056	0,001	0,054	0,003	0,056	0,002	0,051	0,002	0,053	0,001	0,051	0,003	0,051	0,001
<i>S. b.</i>	0,049	0,001	0,047	0,002	0,050	0,001	0,049	0,001	0,044	0,002	0,048	0,002	0,047	0,002	0,048	0,002	0,050	0,001	0,053	0,001
<i>K. f.</i>	0,021	0,002	0,020	0,005	0,021	0,006	0,016	0,004	0,020	0,003	0,018	0,005	0,020	0,004	0,019	0,006	0,019	0,006	0,014	0,002
<i>X. m.</i>	0,084	0,001	0,076	0,005	0,075	0,002	0,074	0,001	0,074	0,002	0,073	0,004	0,071	0,003	0,071	0,002	0,076	0,002	0,072	0,002
<i>C. n.</i>	0,058	0,002	0,055	0,002	0,055	0,001	0,056	0,003	0,054	0,004	0,055	0,002	0,055	0,005	0,052	0,003	0,056	0,003	0,059	0,004

Tab. A17.22: Messung nach 24 h, Teststoff Isoproturon

Alg./K.	IP 0	IP0ST	IP 1	IP1ST	IP 2	IP2ST	IP 3	IP3ST	IP 4	IP4ST	IP 5	IP5ST	IP 6	IP6ST	IP 7	IP7ST	IP 8	IP8ST	IP 9	IP9ST
<i>S. s.</i>	0,155	0,002	0,153	0,004	0,153	0,006	0,143	0,005	0,120	0,004	0,102	0,001	0,090	0,003	0,084	0,000	0,081	0,003	0,078	0,003
<i>X. t.</i>	0,064	0,002	0,064	0,002	0,063	0,002	0,064	0,002	0,061	0,003	0,064	0,003	0,057	0,003	0,057	0,001	0,054	0,004	0,050	0,001
<i>S. b.</i>	0,067	0,002	0,067	0,001	0,069	0,002	0,069	0,001	0,064	0,001	0,069	0,002	0,069	0,003	0,070	0,003	0,064	0,001	0,063	0,001
<i>K. f.</i>	0,028	0,005	0,025	0,007	0,028	0,005	0,023	0,005	0,025	0,004	0,024	0,006	0,025	0,006	0,024	0,005	0,020	0,005	0,016	0,001
<i>X. m.</i>	0,098	0,001	0,093	0,004	0,089	0,001	0,090	0,001	0,091	0,002	0,086	0,004	0,083	0,003	0,077	0,003	0,076	0,002	0,071	0,003
<i>C. n.</i>	0,069	0,003	0,068	0,001	0,065	0,000	0,067	0,004	0,063	0,003	0,057	0,003	0,056	0,006	0,052	0,003	0,051	0,004	0,053	0,005

Tab. A17.23: Messung nach 48 h, Teststoff Isoproturon

Alg./K.	IP 0	IP0ST	IP 1	IP1ST	IP 2	IP2ST	IP 3	IP3ST	IP 4	IP4ST	IP 5	IP5ST	IP 6	IP6ST	IP 7	IP7ST	IP 8	IP8ST	IP 9	IP9ST
<i>S. s.</i>	0,245	0,005	0,239	0,004	0,240	0,007	0,230	0,004	0,209	0,006	0,161	0,001	0,105	0,006	0,084	0,001	0,077	0,003	0,071	0,002
<i>X. t.</i>	0,071	0,002	0,071	0,002	0,070	0,003	0,070	0,001	0,066	0,004	0,067	0,003	0,061	0,003	0,057	0,001	0,055	0,004	0,050	0,001
<i>S. b.</i>	0,089	0,002	0,087	0,001	0,090	0,002	0,090	0,001	0,087	0,002	0,089	0,002	0,091	0,003	0,090	0,004	0,077	0,001	0,071	0,003
<i>K. f.</i>	0,032	0,003	0,029	0,006	0,031	0,009	0,026	0,007	0,032	0,004	0,027	0,009	0,031	0,006	0,029	0,005	0,020	0,006	0,017	0,002
<i>X. m.</i>	0,114	0,002	0,108	0,004	0,105	0,003	0,104	0,002	0,105	0,002	0,097	0,004	0,090	0,003	0,080	0,003	0,077	0,002	0,073	0,003
<i>C. n.</i>	0,074	0,003	0,073	0,002	0,068	0,001	0,072	0,003	0,068	0,002	0,060	0,003	0,054	0,005	0,049	0,003	0,045	0,003	0,048	0,004

Tab. A17.24: Messung nach 72 h, Teststoff Isoproturon

Alg./K.	IP 0	IP0ST	IP 1	IP1ST	IP 2	IP2ST	IP 3	IP3ST	IP 4	IP4ST	IP 5	IP5ST	IP 6	IP6ST	IP 7	IP7ST	IP 8	IP8ST	IP 9	IP9ST
<i>S. s.</i>	0,286	0,006	0,282	0,005	0,285	0,008	0,279	0,005	0,251	0,007	0,197	0,003	0,120	0,012	0,079	0,001	0,070	0,002	0,065	0,002
<i>X. t.</i>	0,082	0,004	0,078	0,002	0,083	0,004	0,078	0,003	0,070	0,005	0,069	0,003	0,062	0,003	0,057	0,001	0,051	0,004	0,047	0,001
<i>S. b.</i>	0,112	0,006	0,108	0,002	0,114	0,003	0,112	0,002	0,108	0,002	0,108	0,001	0,108	0,003	0,097	0,004	0,079	0,001	0,066	0,004
<i>K. f.</i>	0,041	0,007	0,034	0,004	0,035	0,008	0,030	0,008	0,042	0,009	0,037	0,007	0,042	0,006	0,035	0,005	0,027	0,005	0,021	0,003
<i>X. m.</i>	0,124	0,002	0,117	0,004	0,114	0,003	0,115	0,005	0,113	0,001	0,102	0,006	0,092	0,003	0,079	0,003	0,075	0,001	0,070	0,004
<i>C. n.</i>	0,084	0,004	0,083	0,004	0,077	0,003	0,081	0,006	0,079	0,008	0,066	0,003	0,057	0,005	0,048	0,003	0,042	0,003	0,043	0,004

Tab. A17.25: Messung nach 96 h, Teststoff Isoproturon

Alg./K.	IP 0	IP0ST	IP 1	IP1ST	IP 2	IP2ST	IP 3	IP3ST	IP 4	IP4ST	IP 5	IP5ST	IP 6	IP6ST	IP 7	IP7ST	IP 8	IP8ST	IP 9	IP9ST
<i>S. s.</i>	0,314	0,008	0,314	0,006	0,315	0,006	0,304	0,004	0,272	0,008	0,215	0,005	0,140	0,011	0,076	0,001	0,065	0,002	0,060	0,002
<i>X. t.</i>	0,091	0,007	0,100	0,011	0,088	0,004	0,088	0,004	0,074	0,006	0,072	0,003	0,064	0,004	0,051	0,001	0,045	0,003	0,042	0,003
<i>S. b.</i>	0,131	0,007	0,132	0,003	0,141	0,005	0,141	0,005	0,124	0,003	0,122	0,001	0,120	0,003	0,106	0,007	0,080	0,001	0,059	0,004
<i>K. f.</i>	0,043	0,003	0,050	0,005	0,035	0,010	0,037	0,010	0,044	0,007	0,040	0,009	0,047	0,007	0,039	0,011	0,035	0,007	0,021	0,002
<i>X. m.</i>	0,135	0,001	0,138	0,019	0,128	0,001	0,125	0,001	0,119	0,002	0,104	0,006	0,094	0,003	0,079	0,003	0,074	0,002	0,068	0,004
<i>C. n.</i>	0,089	0,004	0,099	0,008	0,087	0,001	0,087	0,006	0,084	0,008	0,069	0,003	0,058	0,005	0,048	0,004	0,040	0,003	0,041	0,005

Boden-Biotest

Die vier Wiederholungszählungen für die Testalgen (96 h) nach jeweils erneutem Befüllen der Neubauer-Zellzählkammer; angegeben ist die Zellzahl, die multipliziert mit 100 000 (bei *Scenedesmus* mit 200 000 und *Chlamydomonas* mit 25 000) die Zellzahl pro Milliliter ergibt, Isoproturonkonzentration angegeben in mg/kg OECD-Mediumbodengemisch.

Erster Wiederholungsversuch:

Tab. A18.1: *Scenedesmus subspicatus*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	146	160	136	52	18	9
2.	152	149	149	53	15	8
3.	156	136	133	51	19	17
4.	146	131	137	63	28	12
Mittelwert	150,0	144,0	138,8	54,8	28,8	23,8
Standardabweichung	4,9	13,1	7,0	5,6	9,2	9,5

Tab. A18.2: *Xanthonema tribonematoides*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	28	34	20	23	6	9
2.	34	31	31	15	11	4
3.	48	33	29	27	4	3
4.	49	31	26	24	12	5
Mittelwert	39,8	32,3	26,5	22,3	8,3	5,3
Standardabweichung	10,4	1,5	4,8	5,1	3,9	2,6

Tab. A18.3: *Xanthonema montanum*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	97	99	78	51	21	18
2.	72	82	79	38	25	37
3.	86	121	77	50	42	24
4.	64	111	67	41	27	16
Mittelwert	79,8	103,3	75,3	45,0	28,8	23,8
Standardabweichung	14,7	16,8	5,6	6,5	9,2	9,5

Tab. A18.4: *Chlamydomonas noctigama*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	39	49	55	16	17	9
2.	56	51	46	12	15	11
3.	37	32	50	17	13	6
4.	29	23	34	15	11	13
Mittelwert	40,3	38,8	46,3	15,0	14,0	9,8
Standardabweichung	11,4	13,5	9,0	2,2	2,6	3,0

Zweiter Wiederholungsversuch:**Tab. A18.5: *Scenedesmus subspicatus***

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	163	158	143	72	22	10
2.	169	158	155	91	23	16
3.	162	123	148	63	15	16
4.	183	188	164	96	23	14
Mittelwert	169,3	156,8	152,5	80,5	20,8	14,0
Standardabweichung	9,7	26,6	9,1	15,6	3,9	2,8

Tab. A18.6: *Xanthonema tribonematoides*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	55	63	45	22	19	16
2.	72	60	45	33	18	10
3.	66	51	38	28	19	15
4.	68	72	43	25	14	17
Mittelwert	65,3	61,5	42,8	27,0	17,5	14,5
Standardabweichung	7,3	8,7	3,3	4,7	2,4	3,1

Tab. A18.7: *Xanthonema montanum*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	88	94	89	41	23	28
2.	74	75	79	53	30	29
3.	63	69	72	32	27	36
4.	55	68	67	54	26	28
Mittelwert	70,0	76,5	76,8	45,0	26,5	30,3
Standardabweichung	14,3	12,1	9,5	10,5	2,9	3,9

Tab. A18.8: *Chlamydomonas noctigama*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	46	43	38	22	13	20
2.	55	59	40	26	25	14
3.	38	33	47	22	21	13
4.	42	43	46	20	25	20
Mittelwert	45,3	44,5	42,8	22,5	21,0	16,8
Standardabweichung	7,3	10,8	4,4	2,5	5,7	3,8

Dritter Wiederholungsversuch:**Tab. A18.9: *Scenedesmus subspicatus***

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	133	131	159	64	21	8
2.	164	162	163	55	26	15
3.	161	149	157	73	16	12
4.	145	169	146	77	25	12
Mittelwert	150,8	152,8	156,3	67,3	22,0	11,8
Standardabweichung	14,5	16,7	7,3	9,8	4,5	2,9

Tab. A18.10: *Xanthonema tribonematoides*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	47	40	17	13	7	7
2.	54	31	26	14	9	10
3.	45	40	19	12	12	5
4.	43	38	26	8	11	10
Mittelwert	47,3	37,3	22,0	11,8	9,8	8,0
Standardabweichung	4,8	4,3	4,7	2,6	2,2	2,4

Tab. A18.11: *Xanthonema montanum*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	92	105	56	40	24	22
2.	94	80	66	37	26	22
3.	101	76	78	38	27	16
4.	89	89	69	28	34	13
Mittelwert	94,0	87,5	67,3	35,8	27,8	18,3
Standardabweichung	5,1	12,9	9,1	5,3	4,3	4,5

Tab. A18.12: *Chlamydomonas noctigama*

Zählung/Isoproturonkonzentration	0,0	0,0195	0,0781	0,3125	1,2500	5,0000
1.	49	44	46	15	12	6
2.	44	38	29	8	8	9
3.	41	30	42	17	11	7
4.	40	50	40	11	9	8
Mittelwert	43,5	40,5	39,3	12,8	10,0	7,5
Standardabweichung	4,0	8,5	7,3	4,0	1,8	1,3

Für den Versuch mit dem Teststoff Cadmiumchlorid konnte im Vergleich zwischen der Kontrolle und der Konzentration 8,00 mg/kg OECD-Mediumbodengemisch nach 96 h keine Hemmung des Wachstums bei der mit Cadmium belasteten Variante festgestellt werden (s. Kap. 4.5.3, S. 82).

10 DANKSAGUNG

Herzlich möchte ich allen danken, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit geholfen haben. Namentlich – im Bedauern, daß ich sicher nicht jeden ausreichend berücksichtigen werde – möchte ich mich besonders bedanken bei:

Herrn Prof. Dr. G. Deml für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, seine Offenheit für neue Ideen und seine Unterstützung in zahlreichen Bereichen sowie für die Betreuung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. C. Steinberg, der trotz der räumlichen Entfernung die Arbeit stets engagiert begleitete, mir durch interessante Diskussionen neue oder weiterführende Ideen vermittelte und wertvolle wissenschaftliche Kontakte anregte.

Herrn Prof. Dr. W. Pestemer, der durch zahlreiche Kontakte und wertvolle wissenschaftliche Diskussionen die Arbeit stets hilfsbereit und engagiert begleitete. Ihm verdanke ich die verschiedenen großzügigen Möglichkeiten für Bodenuntersuchungen, die ich im Institut für ökologische Chemie durchführen bzw. durchführen lassen konnte. Konkret gilt mein Dank Frau Dr. G. Reese-Stähler, Herrn Dr. B.-D. Traulsen und Herrn Dr. T. Strumpf sowie ihren Teams.

Frau V. Ristau und Frau A. Hansen, die mir in der Laborgemeinschaft hilfsbereit zur Seite standen und dem ganzen Institutsteam, das mich immer wieder praktisch unterstützte.

Herrn Dipl.-Biol. G. Hagedorn und Herrn Dr. H. H. Liste für die Mitarbeit in speziellen fachlichen Fragen sowie Herrn Dr. F. Riepert für sein reges Interesse und seine praktischen Tips zur Umsetzung eines anwendungsfreundlichen Biotestsystems.

Herrn Dr. W. Neuhaus für die Einführung in die „Bodenalgenkunde“ sowie Herrn Dr. E. Moll für seine fachliche Unterstützung bei statistischen Fragestellungen und seine erfrischende Art.

Herrn Dr. G. Gärtner von der Universität Innsbruck, der wesentlich zur Entwicklung der Biotests beitrug, indem er mich tagelang in die Bestimmung von Bodenalgen einführte.

Herrn Dr. O. Hering, der den Kontakt zur BBA herstellte, viel Zeit für die Durchsicht des Manuskriptes aufwandte und mich immer wieder persönlich sehr ermutigte.

Der FAZIT-Stiftung für die finanzielle Unterstützung sowie der Deutschen Bundesstiftung Umwelt, die zusätzlich durch Seminare den Blick in andere Wissenschafts- und zukünftige Arbeitsgebiete ermöglichte.

Meinen Eltern Rosi und Claus und meiner Schwägerin Ilona, die sich intensiv um die kleinen Buchstabendreher kümmerten, meiner Schwiegermutter Brigitte für ihre praktische Unterstützung und besonders meiner Ehefrau Ele, die mich mit Liebe und Ausdauer begleitete.

Meiner Tochter Rebecca, die mir mit ihrem Lachen immer wieder zeigte, was noch alles sehr wichtig ist im Leben. Einer ihrer ersten Zwei-Wort-Sätze: „Papa arbeitet“ signalisierte mir, daß sie meine Arbeit eifrig verfolgte.

Dem, der mir Gesundheit, Kraft und Ausdauer für diese Arbeit schenkte.

„Wie soll ich dem Herrn nun danken für all das Gute, das er mir getan hat?“ Psalm 116,12

11 LEBENSLAUF

Zur Person

Name: Burhenne
 Vorname: Matthias
 geboren am: 28.07.1968
 in: Berlin
 Familienstand: verheiratet seit dem 29.6.1995 mit Eleonore Burhenne geb. Buth
 Kinder: Rebecca Leonie Burhenne, geb. 20.3.1998
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Vater: Claus Burhenne
 Mutter: Rosemarie Burhenne geb. Kunke

Aus- und Fortbildung

Schulbesuche: Erich-Kästner-Grundschule von 1976 bis 1981
 Hildegard-Wegscheider-Oberschule von 1981 bis 1988 (Abitur)
 Hochschulbesuche: Studium der Biologie an der Freien Universität Berlin ab WS 88/89
 externe Diplomarbeit an der Universität Potsdam
 Abschluß an der Freien Universität Berlin 1994: Diplom-Biologe
 Promotionsbeginn 1995 an der Humboldt-Universität zu Berlin,
 Institut für Biologie

Tätigkeiten und Förderungen

Berufstätigkeit: ab Oktober 1994 Volontär an der Biologischen Bundesanstalt
 für Land- und Forstwirtschaft, Berlin, im Institut für Mikrobiologie
 seit November 1998 mit einer 2/3 Stelle parallel zur Promotion als
 Jugendreferent für die Bibelschule Wiedenest e. V. tätig
 Förderungen: Förderung der Promotion durch ein dreijähriges Stipendium der
 Deutschen Bundesstiftung Umwelt, Osnabrück, bis zum 30.4.98
 Abschlußstipendium der FAZIT-Stiftung bis zum 30.8.98

Berlin, den 13. Dezember 1999

.....

12 SACHREGISTER

A

Arelon 18, 125

B

Biotests

- mit Algen 14
- Definition 8
- Eigenschaften 10
- in Gesetzen 11
- Vergleiche zwischen Biotests 93

Biotestorganismen 65

Biotestsystem 8

Bioverfügbarkeit 84, 91

Blei 59

Bodenalgen

- Artenvielfalt 6
- Definition 5
- Isolierung 5, 20, 24, 41, 56
- Vorkommen 6, 7, 61

Bodenalgenmittelwert_{EC50} 91

Boden-Biotest 31, 35, 53, 77, 81

C

Cadmium 18, 59, 124

Chemikaliengesetz 12

Chlamydomonas noctigama 47, 49

Culture-Counter 80

D

Dosis-Wirkungs-Kurven 8

Dynamic Energy Budget Model 9

E

EC₁₀ bzw. 50-Wert 3, 9

G

gelartiges Medium 68

Gel-Biotest 31, 35, 69

Goldfilter 56

Goldfiltermethode 80

I

Isoproturon 18, 71, 88, 125

K

Klebsormidium flaccidum 47, 48

L

Laborbiotest 8

M

Metallothioneine 71

Mikrotiterplatten 37, 79

Mikrotiterplattenphotometer 75

N

NEC 3, 9

NOEC 3, 9

NOEL 3, 9

P

Pflanzenschutzgesetz 12

Pflanzenzest 89

Polystyrol 68

R

Rieselfeldböden 62

S

Scendesmus subspicatus 15, 47, 49, 75, 92

Selenastrum capricornutum 15

Standardisierung 69

spezifische Wachstumsrate 38

Stichococcus bacillaris 47, 48

Sorption 84, 91

T

toxikologische Kennwerte 70

X

Xanthonema tribonematoides 47, 48

Xanthonema montanum 47, 49